

(12)特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19)世界知的所有権機関
国際事務局



(43)国際公開日
2004年2月19日 (19.02.2004)

PCT

(10)国際公開番号
WO 2004/014414 A1

- (51) 国際特許分類⁷: A61K 38/17, 31/7088, 39/395, 45/00, 48/00, A61P 3/04, 5/00, 5/38, 7/00, 9/00, 13/12, 15/00, 21/00, 21/04, 25/00, 25/02, 25/08, 25/14, 25/18, 25/20, 25/24, 27/02, 37/00, C12N 5/06, 5/10, A01K 67/027, C12Q 1/02, 1/68, C07K 14/47
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2003/010078
- (22) 国際出願日: 2003年8月7日 (07.08.2003)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願2002-232684 2002年8月9日 (09.08.2002) JP
- (71) 出願人(米国を除く全ての指定国について): 武田薬品工業株式会社 (TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD.) [JP/JP]; 〒541-0045 大阪府 大阪市中央区道修町四丁目1番1号 Osaka (JP).
- (72) 発明者; および
(75) 発明者/出願人(米国についてのみ): 春日久男 (KASUGA, Hisao) [JP/JP]; 〒560-0051 大阪府 豊中市 永楽荘1丁目9-5-215 Osaka (JP). 日沼州司 (HINUMA, Shuji) [JP/JP]; 〒305-0821 茨城県つくば市 春日1丁目7-9-1402 Ibaraki (JP). 宮下英昭 (MIYASHITA, Hideaki) [JP/JP]; 〒583-0865 大阪府 羽曳野市 羽曳が丘西1丁目5-36 Osaka (JP). 松岡邦夫 (MATSUOKA, Kunio) [JP/JP]; 〒564-0004 大阪府 吹田市原町1丁目18-6 Osaka (JP).
- (74) 代理人: 高橋秀一, 外 (TAKAHASHI, Shuichi et al.); 〒532-0024 大阪府 大阪市淀川区十三本町2丁目17番85号 武田薬品工業株式会社大阪工場内Osaka (JP).
- (81) 指定国(国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国(広域): ARIPO特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:
— 國際調査報告書

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイドスノート」を参照。

A1

(54) Title: NOVEL USES OF RFRP AND OT7T022

(54) 発明の名称: RFRP および OT7T022 の新規用途

(57) Abstract: RFRP, OT7T022, DNAs encoding the same and an OT7T022 agonist are useful as preventives, remedies and improving agents for myopathy, adrenal dysfunction, twitching, aggressive behaviors, gait abnormality, body temperature rise, leukopenia, thrombopenia, increase in voluntary behaviors, muscular depression, etc. A nonhuman animal with the insufficient expression of an OT7T022 gene is useful in screening a preventive, a remedy or an improving drug for the above diseases.

(57) 要約: RFRP および OT7T022 またはそれらをコードするDNAやOT7T022アゴニストは筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加または筋力低下などの予防・治療・改善薬として有用であり、OT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物は、上記疾患の予防・治療・改善薬のスクリーニングに有用である。

WO 2004/014414

明細書

R F R P および O T 7 T 0 2 2 の新規用途

5 技術分野

本発明は、R F R P および R F R P のレセプター蛋白質である O T 7 T 0 2 2 の新規用途に関する。

さらに、本発明は、O T 7 T 0 2 2 遺伝子が不活性化された非ヒト哺乳動物の胚幹細胞、O T 7 T 0 2 2 遺伝子発現不全非ヒト哺乳動物、それらを用いるスクリーニング方法およびそのスクリーニングによって得られる予防・治療・改善薬などに関する。

背景技術

新規な受容体 O T 7 T 0 2 2 とそれに結合する C 末端が L P L R F amide 様、L P L R S amide 様、L P Q R F amide 様または L P L R L amide 様のペプチド (R F R P - 1、R F R P - 2、R F R P - 3) が報告されている (W O 0 0 / 2 9 4 4 1 号)。

O T 7 T 0 2 2 と R F R P - 1、R F R P - 2、R F R P - 3 が プロラクチン分泌に関与していることが報告されている (W O 0 1 / 6 6 1 3 4 号)。

R F R P - 1 に対応する N P S F や R F R P - 3 に対応する N P V F が O T 7 T 0 2 2 に結合し、抗オピオイドに関与していることが記載されている (The Journal of Biological Chemistry, vol. 276, No. 40, p36961-36969, 2001)。

しかし、R F R P および O T 7 T 0 2 2 の生体内における機能および作用機序については、さらに解明すべき点が数多く残されている。

O T 7 T 0 2 2 遺伝子が不活性化された非ヒト動物 E S 細胞の作製に成功すれば、O T 7 T 0 2 2 遺伝子発現不全非ヒト動物を作出することができる。そして、得られる O T 7 T 0 2 2 遺伝子発現不全非ヒト動物は、O T 7 T 0

22により誘導され得る種々の生物活性を欠失するため、OT7T022の生物活性の不活性化を原因とする疾病のモデルとなり、これらの疾患の原因究明および治療法の検討が可能となる。

本発明は、RFRPおよびOT7T022のさらなる機能を解明し、新たな医薬を提供することを課題とする。

発明の開示

本発明者らは、上記の課題に鑑み、鋭意研究を重ねた結果、OT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物を作出することに成功し、該動物の発現型として、予想外にも体温上昇、腎臓絶対重量の増加、胸腺絶対重量の増加、白血球数の減少、血小板数の減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加、攻撃行動の誘発、後退歩行、筋力の低下などが起こることを見出した。本発明者らは、これらの知見に基づいて、さらに検討を重ねた結果、本発明を完成するに至った。

すなわち、本発明は、

[1] 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤、

[2] ポリペプチドが配列番号：1、配列番号：3、配列番号：5、配列番号：7、配列番号：9または配列番号：22で表されるアミノ酸配列からなるポリペプチドである上記〔1〕記載の剤、

〔3〕部分ペプチドが、

(i) 配列番号：1または配列番号：3で表わされるアミノ酸配列の第88番目(Leu)～第92番目(Phe)のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列のN末端側に、それぞれ配列番号：1または3で表わされるアミノ酸配列

の第1番目 (Met) ~ 第87番目 (Asn) のアミノ酸配列のC末端から数えて
1~87個のアミノ酸が付加していてもよいアミノ酸配列からなるペプチド
(ヒトRFRP-1)、

5 (ii) 配列番号：1または配列番号：3で表わされるアミノ酸配列の第10
1番目 (Ser) ~ 第112番目 (Ser) のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ
酸配列のN末端側に、それぞれ配列番号：1または3で表わされるアミノ酸
配列の第1番目 (Met) ~ 第100番目 (Arg) のアミノ酸配列のC末端から
数えて1~100個のアミノ酸が付加していてもよいアミノ酸配列からなる
ペプチド (ヒトRFRP-2)、

10 (iii) 配列番号：1または配列番号：3で表わされるアミノ酸配列の第12
7番目 (Leu) ~ 第131番目 (Phe) のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ
酸配列のN末端側に、それぞれ配列番号：1または3で表わされるアミノ酸
配列の第1番目 (Met) ~ 第126番目 (Asn) のアミノ酸配列のC末端から
数えて1~126個のアミノ酸が付加していてもよいアミノ酸配列からなる
ペプチド (ヒトRFRP-3)、

15 (iv) 配列番号：5で表わされるアミノ酸配列の第88番目 (Leu) ~ 第92
番目 (Phe) のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列のN末端側に、配列
番号：5で表わされるアミノ酸配列の第1番目 (Met) ~ 第87番目 (Lys)
のアミノ酸配列のC末端から数えて1~87個のアミノ酸が付加していても
よいアミノ酸配列からなるペプチド (ウシRFRP-1)、

20 (v) 配列番号：5で表わされるアミノ酸配列の第101番目 (Ser) ~ 第1
12番目 (Leu) のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列のN末端側に、
配列番号：5で表わされるアミノ酸配列の第1番目 (Met) ~ 第100番目
(Arg) のアミノ酸配列のC末端から数えて1~100個のアミノ酸が付加し
ていてもよいアミノ酸配列からなるペプチド (ウシRFRP-2)、

25 (vi) 配列番号：5で表わされるアミノ酸配列の第127番目 (Leu) ~ 第1
31番目 (Phe) のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列のN末端側に、
配列番号：5で表わされるアミノ酸配列の第1番目 (Met) ~ 第126番目

(Asn) のアミノ酸配列の C 末端から数えて 1 ~ 1 2 6 個のアミノ酸が付加してもよいアミノ酸配列からなるペプチド (ウシ R F R P - 3) 、

5 (vii) 配列番号 : 9 で表わされるアミノ酸配列の第 9 0 番目 (Leu) ~ 第 9 4 番目 (Phe) のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列の N 末端側に、配列番号 : 9 で表わされるアミノ酸配列の第 1 番目 (Met) ~ 第 8 9 番目 (Asn) のアミノ酸配列の C 末端から数えて 1 ~ 8 9 個のアミノ酸が付加してもよいアミノ酸配列からなるペプチド (マウス R F R P - 1) 、

10 (viii) 配列番号 : 9 で表わされるアミノ酸配列の第 1 2 1 番目 (Leu) ~ 第 1 2 5 番目 (Phe) のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列の N 末端側に、配列番号 : 9 で表わされるアミノ酸配列の第 1 番目 (Met) ~ 第 1 2 0 番目 (Ser) のアミノ酸配列の C 末端から数えて 1 ~ 1 2 0 個のアミノ酸が付加してもよいアミノ酸配列からなるペプチド (マウス R F R P - 3) 、

15 (ix) 配列番号 : 7 または 2 2 で表わされるアミノ酸配列の第 9 0 番目 (Leu) ~ 第 9 4 番目 (Phe) のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列の N 末端側に、それぞれ配列番号 : 7 または 2 2 で表わされるアミノ酸配列の第 1 番目 (Met) ~ 第 8 9 番目 (Val) のアミノ酸配列の C 末端から数えて 1 ~ 8 9 個のアミノ酸が付加してもよいアミノ酸配列からなるペプチド (ラット R F R P - 1) 、

20 (x) 配列番号 : 7 または 2 2 で表わされるアミノ酸配列の第 1 2 1 番目 (Leu) ~ 第 1 2 5 番目 (Phe) のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列の N 末端側に、それぞれ配列番号 : 7 または 2 2 で表わされるアミノ酸配列の第 1 番目 (Met) ~ 第 1 2 0 番目 (Ser) のアミノ酸配列の C 末端から数えて 1 ~ 1 2 0 個のアミノ酸が付加してもよいアミノ酸配列からなるペプチド (ラット R F R P - 3) 、

25 (xi) 上記 (i) ~ (x) のペプチドのアミノ酸配列に 1 ~ 5 個のアミノ酸が付加したアミノ酸配列からなるペプチド、

(xii) 上記 (i) ~ (x) のペプチドのアミノ酸配列に 1 ~ 5 個のアミノ酸が挿入されたアミノ酸配列からなるペプチド、

(xiii) 上記 (i) ~ (x) のペプチドのアミノ酸配列中の 1 ~ 5 個のアミノ酸で置換されたアミノ酸配列からなるペプチド、または

(xiv) 上記 (xi) ~ (xiii) の付加・挿入・置換を組み合わせたアミノ酸配列からなるペプチドである上記 [1] 記載の剤、

5 [4] 部分ペプチドが、

(i) 配列番号：1 または配列番号：3 で表わされるアミノ酸配列の第 5 6 番目 (Ser) ~ 第 9 2 番目 (Phe)、第 7 0 番目 (Met) ~ 第 9 2 番目 (Phe)、第 7 3 番目 (Met) ~ 第 9 2 番目 (Phe)、第 8 1 番目 (Met) ~ 第 9 2 番目 (Phe) または第 8 4 番目 (Ser) ~ 第 9 2 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド (ヒト R F R P - 1)、

10 (ii) 配列番号：1 または配列番号：3 で表わされるアミノ酸配列の第 1 0 1 番目 (Ser) ~ 第 1 1 2 番目 (Ser) のアミノ酸配列からなるペプチド (ヒト R F R P - 2)、

15 (iii) 配列番号：1 または配列番号：3 で表わされるアミノ酸配列の第 1 0 1 番目 (Asn) ~ 第 1 3 1 番目 (Phe)、第 1 0 4 番目 (Asn) ~ 第 1 3 1 番目 (Phe)、第 1 1 5 番目 (Asn) ~ 第 1 3 1 番目 (Phe)、第 1 2 4 番目 (Val) ~ 第 1 3 1 番目 (Phe)、第 1 2 5 番目 (Pro) ~ 第 1 3 1 番目 (Phe)、第 1 2 6 番目 (Asn) ~ 第 1 3 1 番目 (Phe) または第 1 2 7 番目 (Leu) ~ 第 1 3 1 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド (ヒト R F R P - 3)、

20 (iv) 配列番号：5 で表わされるアミノ酸配列の第 5 8 番目 (Ser) ~ 第 9 2 番目 (Phe)、第 7 0 番目 (Lys) ~ 第 9 2 番目 (Phe)、第 7 3 番目 (Met) ~ 第 9 2 番目 (Phe)、第 8 1 番目 (Met) ~ 第 9 2 番目 (Phe) または第 8 4 番目 (Ser) ~ 第 9 2 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド (ウシ R F R P - 1)、

25 (v) 配列番号：5 で表わされるアミノ酸配列の第 1 0 1 番目 (Ser) ~ 第 1 1 2 番目 (Leu) のアミノ酸配列からなるペプチド (ウシ R F R P - 2)、

(vi) 配列番号：5 で表わされるアミノ酸配列の第 1 0 1 番目 (Ser) ~ 第 1 3 1 番目 (Phe)、第 1 0 4 番目 (Ala) ~ 第 1 3 1 番目 (Phe)、第 1 1 5 番

- 目 (Asn) ~ 第 1 3 1 番目 (Phe) 、 第 1 2 4 番目 (Val) ~ 第 1 3 1 番目 (Phe) 、
 第 1 2 5 番目 (Pro) ~ 第 1 3 1 番目 (Phe) 、 第 1 2 6 番目 (Asn) ~ 第 1 3
 1 番目 (Phe) または第 1 2 7 番目 (Leu) ~ 第 1 3 1 番目 (Phe) のアミノ酸
 配列からなるペプチド (ウシ R F R P - 3) 、
- 5 (vii) 配列番号 : 9 で表わされるアミノ酸配列の第 5 8 番目 (Ser) ~ 第 9
 4 番目 (Phe) 、 第 7 2 番目 (Val) ~ 第 9 4 番目 (Phe) 、 第 7 5 番目 (Met)
 ~ 第 9 4 番目 (Phe) 、 第 8 3 番目 (Val) ~ 第 9 4 番目 (Phe) または第 8 4
 番目 (Pro) ~ 第 9 4 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド (マウス
 R F R P - 1) 、
- 10 (viii) 配列番号 : 9 で表わされるアミノ酸配列の第 1 1 8 番目 (Phe) ~ 第
 1 2 5 番目 (Phe) 、 第 1 1 9 番目 (Pro) ~ 第 1 2 5 番目 (Phe) 、 第 1 2 0
 番目 (Ser) ~ 第 1 2 5 番目 (Phe) または第 1 2 1 番目 (Leu) ~ 第 1 2 5 番
 目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド (マウス R F R P - 3) 、
- (ix) 配列番号 : 7 または 2 2 で表わされるアミノ酸配列の第 5 8 番目 (Ser)
 15 ~ 第 9 4 番目 (Phe) 、 第 7 2 番目 (Asp) ~ 第 9 4 番目 (Phe) 、 第 7 5 番目
 (Met) ~ 第 9 4 番目 (Phe) 、 第 8 3 番目 (Val) ~ 第 9 4 番目 (Phe) または
 第 8 4 番目 (Pro) ~ 第 9 4 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド
 (ラット R F R P - 1) 、
- (x) 配列番号 : 7 または 2 2 で表わされるアミノ酸配列の第 1 1 8 番目
 20 (Phe) ~ 第 1 2 5 番目 (Phe) 、 第 1 1 9 番目 (Pro) ~ 第 1 2 5 番目 (Phe) 、
 第 1 2 0 番目 (Ser) ~ 第 1 2 5 番目 (Phe) または第 1 2 1 番目 (Leu) ~ 第
 1 2 5 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド (ラット R F R P - 3) 、
- (xi) 上記 (i) ~ (x) のペプチドのアミノ酸配列中の 1 ~ 5 個のアミノ
 酸が欠失したアミノ酸配列からなるペプチド (欠失型) 、
- 25 (xii) 上記 (i) ~ (x) のペプチドのアミノ酸配列に 1 ~ 5 個のアミノ酸
 が付加したアミノ酸配列からなるペプチド (付加型) 、
- (xiii) 上記 (i) ~ (x) のペプチドのアミノ酸配列に 1 ~ 5 個のアミノ
 酸が挿入されたアミノ酸配列からなるペプチド (挿入型) 、

(xiv) 上記 (i) ~ (x) のペプチドのアミノ酸配列中の 1 ~ 5 個のアミノ酸で置換されたアミノ酸配列からなるペプチド（置換型）、または

(xv) 上記 (xi) ~ (xiv) の欠失・付加・挿入・置換を組み合わせたアミノ酸配列からなるペプチドである上記 [1] 記載の剤、

5 [5] 配列番号：1 で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドをコードする DNA を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤、

10 [6] DNA が配列番号：1、配列番号：3、配列番号：5、配列番号：7、配列番号：9 または配列番号：22 で表されるアミノ酸配列からなるポリペプチドをコードする DNA である上記 [5] 記載の剤、

[7] DNA が、

15 (i) 配列番号：1 または配列番号：3 で表わされるアミノ酸配列の第 56 番目 (Ser) ~ 第 92 番目 (Phe)、第 70 番目 (Met) ~ 第 92 番目 (Phe)、第 73 番目 (Met) ~ 第 92 番目 (Phe)、第 81 番目 (Met) ~ 第 92 番目 (Phe) または第 84 番目 (Ser) ~ 第 92 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド（ヒト RFRP-1）、

20 (ii) 配列番号：1 または配列番号：3 で表わされるアミノ酸配列の第 101 番目 (Ser) ~ 第 112 番目 (Ser) のアミノ酸配列からなるペプチド（ヒト RFRP-2）、

25 (iii) 配列番号：1 または配列番号：3 で表わされるアミノ酸配列の第 101 番目 (Asn) ~ 第 131 番目 (Phe)、第 104 番目 (Asn) ~ 第 131 番目 (Phe)、第 115 番目 (Asn) ~ 第 131 番目 (Phe)、第 124 番目 (Val) ~ 第 131 番目 (Phe)、第 125 番目 (Pro) ~ 第 131 番目 (Phe)、第 126 番目 (Asn) ~ 第 131 番目 (Phe) または第 127 番目 (Leu) ~ 第 131 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド（ヒト RFRP-3）、

(iv) 配列番号：5 で表わされるアミノ酸配列の第 58 番目 (Ser) ~ 第 92

番目 (Phe) 、第 70 番目 (Lys) ~ 第 92 番目 (Phe) 、第 73 番目 (Met) ~ 第 92 番目 (Phe) 、第 81 番目 (Met) ~ 第 92 番目 (Phe) または第 84 番目 (Ser) ~ 第 92 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド (ウシ R F R P - 1) 、

5 (v) 配列番号 : 5 で表わされるアミノ酸配列の第 101 番目 (Ser) ~ 第 112 番目 (Leu) のアミノ酸配列からなるペプチド (ウシ R F R P - 2) 、

(vi) 配列番号 : 5 で表わされるアミノ酸配列の第 101 番目 (Ser) ~ 第 131 番目 (Phe) 、第 104 番目 (Ala) ~ 第 131 番目 (Phe) 、第 115 番目 (Asn) ~ 第 131 番目 (Phe) 、第 124 番目 (Val) ~ 第 131 番目 (Phe) 、
10 第 125 番目 (Pro) ~ 第 131 番目 (Phe) 、第 126 番目 (Asn) ~ 第 131 番目 (Phe) または第 127 番目 (Leu) ~ 第 131 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド (ウシ R F R P - 3) 、

(vii) 配列番号 : 9 で表わされるアミノ酸配列の第 58 番目 (Ser) ~ 第 94 番目 (Phe) 、第 72 番目 (Val) ~ 第 94 番目 (Phe) 、第 75 番目 (Met) ~ 第 94 番目 (Phe) 、第 83 番目 (Val) ~ 第 94 番目 (Phe) または第 84 番目 (Pro) ~ 第 94 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド (マウス R F R P - 1) 、

(viii) 配列番号 : 9 で表わされるアミノ酸配列の第 118 番目 (Phe) ~ 第 125 番目 (Phe) 、第 119 番目 (Pro) ~ 第 125 番目 (Phe) 、第 120 番目 (Ser) ~ 第 125 番目 (Phe) または第 121 番目 (Leu) ~ 第 125 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド (マウス R F R P - 3) 、

(ix) 配列番号 : 7 または 22 で表わされるアミノ酸配列の第 58 番目 (Ser) ~ 第 94 番目 (Phe) 、第 72 番目 (Asp) ~ 第 94 番目 (Phe) 、第 75 番目 (Met) ~ 第 94 番目 (Phe) 、第 83 番目 (Val) ~ 第 94 番目 (Phe) または第 84 番目 (Pro) ~ 第 94 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド (ラット R F R P - 1) 、

(x) 配列番号 : 7 または 22 で表わされるアミノ酸配列の第 118 番目 (Phe) ~ 第 125 番目 (Phe) 、第 119 番目 (Pro) ~ 第 125 番目 (Phe) 、

- 第120番目(Ser)～第125番目(Phe)または第121番目(Leu)～第125番目(Phe)のアミノ酸配列からなるペプチド(ラットRFRP-3)、
(xi) 上記(i)～(x)のペプチドのアミノ酸配列中の1～5個のアミノ酸が欠失したアミノ酸配列からなるペプチド(欠失型)、
5 (xii) 上記(i)～(x)のペプチドのアミノ酸配列に1～5個のアミノ酸が付加したアミノ酸配列からなるペプチド(付加型)、
(xiii) 上記(i)～(x)のペプチドのアミノ酸配列に1～5個のアミノ酸が挿入されたアミノ酸配列からなるペプチド(挿入型)、
(xiv) 上記(i)～(x)のペプチドのアミノ酸配列中の1～5個のアミノ酸で置換されたアミノ酸配列からなるペプチド(置換型)、または
10 (xv) 上記(xi)～(xiv)の欠失・付加・挿入・置換を組み合わせたアミノ酸配列からなるペプチド、
をコードするDNAである上記〔5〕記載の剤、
〔8〕配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一の
アミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドをコードする
15 DNAを含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、
体温変化、白血球数変化、血小板数変化、自発行動量(特に、夜間自発行動量)
の変化または筋力変化の診断剤、
〔9〕配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一の
アミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩に対する抗体を含有してなる筋疾患、
副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量(特に、夜間自発行動量)
20 の減少の予防・治療・改善剤、
〔10〕配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩に対する抗体を含有してなる筋疾患、
副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温変化、白血球数変化、血
25 小板数変化、自発行動量(特に、夜間自発行動量)の変化、筋力変化の診断

剤、

〔11〕配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドをコードするDNAに相補的な塩基配列またはその一部を含有するアンチセンスDNAを含有してなる筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数增加または自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少の予防・治療・改善剤、

〔12〕配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドの発現量を10增加させる化合物またはその塩を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤、

〔13〕配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドの発現量を15減少させる化合物またはその塩を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少の予防・治療・改善剤、

〔14〕配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤、

〔15〕OT7T022が配列番号：11で表されるアミノ酸配列からなるレセプター蛋白質である上記〔14〕記載の剤、

〔16〕配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドをコードするDNAを含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動

量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤、

〔17〕DNAが配列番号：11で表されるアミノ酸配列からなるレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドをコードするDNAである上記〔16〕記載の剤、

5 〔18〕配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドをコードするDNAを含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温変化、白血球数変化、血小板数変化、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の変化または筋力変化の診断剤、

10 〔19〕配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対する抗体を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少の予防・治療・改善剤、

15 〔20〕配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対する抗体を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温変化、白血球数変化、血小板数変化、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の変化または筋力変化の診断剤、

20 〔21〕配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドをコードするDNAに相補的な塩基配列またはその一部を含有するアンチセンスDNAを含有してなる筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少の予防・治療・改善剤、

25 〔22〕配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対するアゴニストを含有してなる筋疾患、副腎機能障

害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤、

〔23〕配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対するアンタゴニストを含有してなる筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少の予防・治療・改善剤、

〔24〕配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドの発現量を増加させる化合物またはその塩を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤、

〔25〕配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドの発現量を減少させる化合物またはその塩を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少の予防・治療・改善剤、

〔26〕哺乳動物に対して、

(i) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩、

(ii) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドをコードするDNA、

(iii) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドの発現量を増

加させる化合物またはその塩、

(iv) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩、

5 (v) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドをコードするDNA、

(vi) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプ

10 チドまたはその塩に対するアゴニスト、または

(vii) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドの発現量を増加させる化合物またはその塩の有効量を投与することを特徴とする筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の增加または筋力低下の予防・治療・改善方法、

〔27〕 哺乳動物に対して、

(i) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩に対する抗体、

(ii) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドをコードするDNAに相補的な塩基配列またはその一部を含有するアンチセンスDNA、

25 (iii) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドの発現量を減少させる化合物またはその塩、

(iv) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプ

チドまたはその塩に対する抗体、

(v) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドをコードするDNAに相補的な塩基配列またはその一部を含有する

5 アンチセンスDNA、

(vi) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対するアンタゴニスト、または

(vii) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドの発現量を減少させる化合物またはその塩の有効量を投与することを特徴とする筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少の予防・治療・改善方法、

15 [28] 筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤を製造するための

(i) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩、

(ii) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドをコードするDNA、

(iii) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドの発現量を増加させる化合物またはその塩、

(iv) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプ

チドまたはその塩、

(v) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドをコードするDNA、

5 (vi) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対するアゴニスト、または

(vii) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分10 ペプチドの発現量を増加させる化合物またはその塩の使用、

[29] 筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少の予防・治療・改善剤を製造するための

15 (i) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩に対する抗体、

(ii) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドをコードするDNAに相補的な塩基配列またはその一部を含有するアンチセンスDNA、

20 (iii) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドの発現量を減少させる化合物またはその塩、

(iv) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対する抗体、

25 (v) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドをコードするDNAに相補的な塩基配列またはその一部を含有する

アンチセンスDNA、

(vi) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対するアンタゴニスト、または

5 (vii) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドの発現量を減少させる化合物またはその塩の使用、

[30] OT7T022遺伝子が不活性化された哺乳動物胚幹細胞、

[31] 薬剤耐性である上記[30]記載の胚幹細胞、

10 [32] 薬剤がネオマイシンである上記[29]記載の胚幹細胞、

[33] レポーター遺伝子の挿入によりOT7T022遺伝子が不活性化された上記[30]記載の胚幹細胞、

[34] レポーター遺伝子がlacZ遺伝子である上記[33]記載の胚幹細胞、

15 [35] 哺乳動物がマウスである上記[30]記載の胚幹細胞、

[36] OT7T022遺伝子が配列番号：12、配列番号：25、配列番号：26、配列番号：28または配列番号：32で表わされる塩基配列を含有する遺伝子である上記[30]記載の胚幹細胞、

[37] OT7T022遺伝子発現不全非ヒト哺乳動物、

20 [38] レポーター遺伝子の挿入によりOT7T022遺伝子が不活性化された上記[37]記載の動物、

[39] 非ヒト哺乳動物がマウスである上記[37]記載の動物、

[40] OT7T022遺伝子が配列番号：12、配列番号：28または配列番号：32で表わされる塩基配列を含有する遺伝子である上記[37]記載の動物、

[41] 野生型非ヒト哺乳動物に比べて、胸腺退縮遅延がみられる上記[37]記載の動物、

[42] 野生型非ヒト哺乳動物に比べて、後退歩行がみられる上記[37]

記載の動物、

〔43〕野生型非ヒト哺乳動物に比べて、侵害刺激（例、熱侵害刺激）に対して鈍麻がみられる上記〔37〕記載の動物、

5 〔44〕野生型非ヒト哺乳動物に比べて、攻撃的行動が多い上記〔37〕記載の動物、

〔45〕野生型非ヒト哺乳動物に比べて、腎臓絶対重量または胸腺絶対重量の低下がみられる上記〔37〕記載の動物、

〔46〕野生型非ヒト哺乳動物に比べて、白血球数または血小板数の減少がみられる上記〔37〕記載の動物、

10 〔47〕野生型非ヒト哺乳動物に比べて、筋力が低下している上記〔37〕記載の動物、

〔48〕上記〔37〕記載の動物もしくはその組織またはそれらに由来する細胞を用いることを特徴とする、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、15 攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下の予防・治療・改善薬のスクリーニング方法、

〔49〕上記〔37〕記載の動物もしくはその組織またはそれらに由来する細胞に試験化合物を投与することを特徴とする上記〔48〕記載のスクリーニング方法、

〔50〕上記〔48〕記載のスクリーニング方法により得られる、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下の予防・治療・改善薬、
25

〔51〕上記〔48〕記載のスクリーニング方法により得られる予防・治療・

- 改善薬を含有してなる痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤、
- 〔52〕上記〔37〕記載の動物と他の病態モデル動物との交配によって生じる病態モデル動物、
- 〔53〕上記〔37〕記載の動物に対する薬剤誘発またはストレス負荷によって生じる病態モデル動物、
- 10 〔54〕上記〔52〕記載の動物に対する薬剤誘発またはストレス負荷によって生じる病体モデル動物、
- 〔55〕上記〔52〕～〔54〕のいずれかに記載の動物もしくはその組織またはそれらに由来する細胞を用いることを特徴とする、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下の予防・治療・改善薬のスクリーニング方法、
- 〔56〕上記〔52〕～〔54〕のいずれかに記載の動物もしくはその組織またはそれらに由来する細胞に試験化合物を投与することを特徴とする、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下の予防・治療・改善薬のスクリーニング方法、
- 20 〔57〕上記〔55〕または〔56〕記載のスクリーニング方法により得られる、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、

不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下の予防・治療・改善薬、

〔58〕上記〔55〕または〔56〕記載のスクリーニング方法により得られる予防・治療・改善薬を含有してなる痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤、

〔59〕上記〔38〕記載の動物に、試験化合物を投与し、レポーター遺伝子の発現を検出することを特徴とするOT7T022遺伝子に対するプロモーター活性を促進または阻害する化合物またはその塩のスクリーニング方法、

〔60〕上記〔59〕記載のスクリーニング方法で得られるOT7T022遺伝子に対するプロモーター活性を促進または阻害する化合物またはその塩、

〔61〕上記〔59〕記載のスクリーニング方法で得られるOT7T022遺伝子に対するプロモーター活性を促進する化合物またはその塩を含有してなる痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤、

〔62〕上記〔59〕記載のスクリーニング方法で得られるOT7T022遺伝子に対するプロモーター活性を阻害する化合物またはその塩を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少の予防・治療・改善剤、鎮痛剤、モルヒネの鎮痛作用促進剤、モルヒネ耐性回避剤またはモルヒネ依存性

回避剤、

[63] 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩、および（または）配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩を用いることを特徴とする筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加、筋力低下、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少の減少の予防・治療・改善薬のスクリーニング方法、および

[64] 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩、および（または）配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加、筋力低下、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少の予防・治療・改善薬のスクリーニング用キットを提供する。

図面の簡単な説明

図1はOT7T022ターゲティングベクターの概略図を示す。

25

発明を実施するための最良の形態

本発明で用いられるRFRPは、配列番号：1で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド（以下、

R F R Pと称する場合がある)であり、ヒトや温血動物(例えば、モルモット、ラット、マウス、ニワトリ、ウサギ、ブタ、ヒツジ、ウシ、サルなど)の細胞(例えば、網膜細胞、肝細胞、脾細胞、神経細胞、グリア細胞、脾臓 β 細胞、骨髄細胞、メサンギウム細胞、ランゲルハンス細胞、表皮細胞、上皮細胞、内皮細胞、纖維芽細胞、纖維細胞、筋細胞、脂肪細胞、免疫細胞(例、マクロファージ、T細胞、B細胞、ナチュラルキラー細胞、肥満細胞、好中球、好塩基球、好酸球、単球)、巨核球、滑膜細胞、軟骨細胞、骨細胞、骨芽細胞、破骨細胞、乳腺細胞、肝細胞もしくは間質細胞、またはこれら細胞の前駆細胞、幹細胞もしくは癌細胞など)もしくはこれらの細胞が存在するあらゆる組織、例えば、脳、脳の各部位(例、網膜、嗅球、扁桃核、大脑基底球、海馬、視床、視床下部、大脑皮質、延髄、小脳)、脊髄、下垂体、胃、脾臓、腎臓、肝臓、生殖腺、甲状腺、胆のう、骨髄、副腎、皮膚、筋肉、肺、消化管(例、大腸、小腸)、血管、心臓、胸腺、脾臓、顎下腺、末梢血、前列腺、睾丸、卵巢、胎盤、子宮、骨、関節、骨格筋など、または血球系の細胞もしくはその培養細胞(例えば、MEL, M1, CTL-L-2, HT-2, WEHI-3, HL-60, JOSK-1, K562, ML-1, MOLT-3, MOLT-4, MOLT-10, CCRF-CEM, TALL-1, Jurkat, CCRT-HSB-2, KE-37, SKW-3, HUT-78, HUT-102, H9, U937, THP-1, HEL, JK-1, CMK, KO-812, MEG-01など)に由来するポリペプチドであつてもよく、合成ポリペプチドであつてもよい。

配列番号：1で表わされるアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列としては、配列番号：1で表わされるアミノ酸配列と約70%以上、好ましくは約80%以上、より好ましくは約90%以上、さらに好ましくは約95%以上の相同性を有するアミノ酸配列などがあげられる。

アミノ酸配列の相同性は、相同性計算アルゴリズムNCBI BLAST (National Center for Biotechnology Information Basic Local Alignment

Search Tool) を用い、以下の条件（期待値=10；ギャップを許す；マトリクス=BLOSUM62；フィルタリング=OFF）にて計算することができる。

5 例えは、配列番号：1で表わされるアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列としては、配列番号：1で表わされるアミノ酸配列の第22～180番目のアミノ酸配列を有するアミノ酸配列や、配列番号：3、配列番号：5、配列番号：7、配列番号：9または配列番号：22で表されるアミノ酸配列などがあげられる。

10 本発明に用いられるRFRPは、具体的には、前記の配列番号：1で表わされるアミノ酸配列からなるポリペプチドまたは配列番号：1で表わされるアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列（例えは、配列番号：3、配列番号：5、配列番号：7、配列番号：9または配列番号：22で表されるアミノ酸配列など）を有し、配列番号：1で表わされるアミノ酸配列からなるポリペプチドと実質的に同質のプロラクチン分泌促進活性などを有するポリペプチドである。

15 実質的に同質とは、プロラクチン分泌促進活性などが性質的に（例、生理化学的に、または薬理学的に）同質であることを示す。従って、プロラクチン分泌促進活性が同等（例、約0.1～100倍、好ましくは約0.5～10倍、より好ましくは0.5～2倍）であることが好ましいが、これらの活性の程度、ポリペプチドの分子量などの量的要素は異なっていてもよい。

20 プロラクチン分泌促進活性の測定は、自体公知の方法に準じて行なうことができるが、例えは、WO 01/66134号の実施例1に従って測定することができる。

また、RFRPとしては、例えは、①配列番号：1、配列番号：3、配列番号：5、配列番号：7、配列番号：9または配列番号：22で表わされるアミノ酸配列中の1～20個（好ましくは、1～15個、さらに好ましくは、1～5個、より好ましくは、1～3個）のアミノ酸が欠失したアミノ酸配列、
25 ②配列番号：1、配列番号：3、配列番号：5、配列番号：7、配列番号：

9 または配列番号：22で表わされるアミノ酸配列に1～20個（好ましくは、1～15個、さらに好ましくは、1～5個、より好ましくは、1～3個）のアミノ酸が付加したアミノ酸配列、③配列番号：1、配列番号：3、配列番号：5、配列番号：7、配列番号：9 または配列番号：22で表わされるアミノ酸配列に1～20個（好ましくは、1～15個、さらに好ましくは、1～5個、より好ましくは、1～3個）のアミノ酸が挿入されたアミノ酸配列、④配列番号：1、配列番号：3、配列番号：5、配列番号：7、配列番号：9 または配列番号：22で表わされるアミノ酸配列中の1～20個（好ましくは、1～15個、さらに好ましくは、1～5個、より好ましくは、1～3個）のアミノ酸が他のアミノ酸で置換されたアミノ酸配列、または⑤それら欠失・付加・挿入・置換を組み合わせたアミノ酸配列を有するポリペプチドも含まれる。

上記のようにアミノ酸配列が欠失、付加、挿入または置換されている場合、その欠失、付加、挿入または置換の位置は特に限定されない。

15 本明細書におけるポリペプチドは、ペプチド標記の慣例に従って左端がN末端（アミノ末端）、右端がC末端（カルボキシル末端）である。配列番号：1で表わされるアミノ酸配列からなるヒトRFRPをはじめとするRFRPは、C末端がカルボキシル基（-COOH）、カルボキシレート（-COO⁻）、アミド（-CONH₂）またはエステル（-COOR）の何れであってもよい。

20 ここでエステルにおけるRとしては、例えば、メチル、エチル、n-プロピル、イソプロピルもしくはn-ブチルなどのC₁₋₆アルキル基、例えば、シクロペンチル、シクロヘキシルなどのC₃₋₈シクロアルキル基、例えば、フェニル、α-ナフチルなどのC₆₋₁₂アリール基、例えば、ベンジル、フェネチルなどのフェニル-C₁₋₂アルキル基もしくはα-ナフチルメチルなどのα-ナフチル-C₁₋₂アルキル基などのC₇₋₁₄アラルキル基のほか、経口用エステルとして汎用されるピバロイルオキシメチル基などが用いられる。

RFRPがC末端以外にカルボキシル基（またはカルボキシレート）を有している場合、カルボキシル基がアミド化またはエステル化されているもの

も本発明でいうR F R Pの範囲に含まれる。この場合のエステルとしては、例えば上記したC末端のエステルなどが用いられる。

さらに、R F R Pには、N末端のアミノ酸残基（例、メチオニン残基）のアミノ基が保護基（例えば、ホルミル基、アセチル基などのC₁₋₆アルカノイルなどのC₁₋₆アシル基など）で保護されているもの、生体内で切断されて生成するN末端のグルタミル基がピログルタミン酸化したもの、分子内のアミノ酸の側鎖上の置換基（例えば-OH、-SH、アミノ基、イミダゾール基、インドール基、グアニジノ基など）が適当な保護基（例えば、ホルミル基、アセチル基などのC₁₋₆アルカノイル基などのC₁₋₆アシル基など）で保護されているもの、あるいは糖鎖が結合したいわゆる糖蛋白質などの複合蛋白質なども含まれる。以下、これらのポリペプチドを含めてR F R Pと略称することもある。

本発明で用いられるR F R Pの具体例としては、例えば、配列番号：1で表わされるアミノ酸配列からなるヒトR F R P、配列番号：3で表わされるアミノ酸配列からなるヒトR F R P、配列番号：5で表わされるアミノ酸配列からなるウシR F R P、配列番号：7で表わされるアミノ酸配列からなるラットR F R P、配列番号：9で表わされるアミノ酸配列からなるマウスR F R P、配列番号：22で表わされるアミノ酸配列からなるラットR F R Pなどが用いられ、例えば、配列番号：1で表わされるアミノ酸配列からなるヒトR F R P、配列番号：3で表わされるアミノ酸配列からなるヒトR F R P、配列番号：5で表わされるアミノ酸配列からなるウシR F R Pが好ましく用いられる。

R F R Pの部分ペプチド（以下、R F R P部分ペプチドと称する場合がある）としては、前記したR F R Pの部分ペプチドであって、後述するOT7 T022（配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質またはその塩）に結合する能力を有するものであれば、いかなるものでもよい。

また、R F R P部分ペプチドは、そのアミノ酸配列中の1～5個（好まし

くは、1～3個のアミノ酸が欠失し、または、そのアミノ酸配列に1～5個（好ましくは、1～3個）のアミノ酸が付加し、または、そのアミノ酸配列に1～5個（好ましくは、1～3個のアミノ酸が挿入され、または、そのアミノ酸配列中の1～5個（好ましくは、1～3個のアミノ酸が他のアミノ酸で置換されたアミノ酸配列からなるものであってもよく、または、それら欠失・付加・挿入・置換を組み合わせたアミノ酸配列からなるものであってもよい。

また、R F R P部分ペプチドはC末端がカルボキシル基（-COOH）、カルボキシレート（-COO⁻）、アミド（-CONH₂）またはエステル（-COOR）（Rは上記と同意義を示す）のいずれであってもよい。なかでも、C末端がアミド（-CONH₂）であるものが好ましい。

R F R P部分ペプチドがC末端以外にカルボキシル基（またはカルボキシレート）を有している場合、カルボキシル基がアミド化またはエステル化されているものも本発明でいうR F R P部分ペプチドに含まれる。この場合のエステルとしては、例えば上記したC末端のエステルなどが用いられる。

さらに、R F R P部分ペプチドには、前記したR F R Pと同様に、N末端のアミノ酸残基（例、メチオニン残基）のアミノ基が保護基で保護されているもの、N端側が生体内で切断され生成したグルタミル基がピログルタミン酸化したもの、分子内のアミノ酸の側鎖上の置換基が適当な保護基で保護されているもの、あるいは糖鎖が結合したいわゆる糖ペプチドなどの複合ペプチドなども含まれる。以下、これらの部分ペプチドも含めてR F R P部分ペプチドと略称することもある。

R F R P部分ペプチドとして好ましくは、R F amide、R S amideまたはR L amide構造を有するペプチド、より好ましくは、R F amideまたはR S amide構造を有するペプチド、特に好ましくは、R F amideを有するペプチドが挙げられる。

R F amide構造とは、ペプチドのC末端がArginine（アルギニン）-Phenylalanine（フェニルアラニン）-NH₂構造になっていることをいい、R

S amide構造とは、ペプチドのC末端がArginine (アルギニン) -Serine (セリン) -NH₂構造になっていることをいい、R L amide構造とは、ペプチドのC末端がArginine (アルギニン) -Leucine (ロイシン) -NH₂構造になっていることを意味する。

5 R F R P部分ペプチドの中でも、例えば、

(i) 配列番号：1または配列番号：3で表わされるアミノ酸配列の第88番目(Leu)～第92番目(Phe)のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列のN末端側に、それぞれ配列番号：1または配列番号：3で表わされるアミノ酸配列の第1番目(Met)～第87番目(Asn)のアミノ酸配列のC末端から数えて1～87個のアミノ酸が付加していてもよいアミノ酸配列からなるヒトR F R P-1、

(ii) 配列番号：1または配列番号：3で表わされるアミノ酸配列の第101番目(Ser)～第112番目(Ser)のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列のN末端側に、それぞれ配列番号：1または配列番号：3で表わされるアミノ酸配列の第1番目(Met)～第100番目(Arg)のアミノ酸配列のC末端から数えて1～100個のアミノ酸が付加していてもよいアミノ酸配列からなるヒトR F R P-2、

(iii) 配列番号：1または配列番号：3で表わされるアミノ酸配列の第127番目(Leu)～第131番目(Phe)のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列のN末端側に、それぞれ配列番号：1または配列番号：3で表わされるアミノ酸配列の第1番目(Met)～第126番目(Asn)のアミノ酸配列のC末端から数えて1～126個のアミノ酸が付加していてもよいアミノ酸配列からなるヒトR F R P-3、

(iv) 配列番号：5で表わされるアミノ酸配列の第88番目(Leu)～第92番目(Phe)のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列のN末端側に、配列番号：5で表わされるアミノ酸配列の第1番目(Met)～第87番目(Asn)のアミノ酸配列のC末端から数えて1～87個のアミノ酸が付加していてもよいアミノ酸配列からなるウシR F R P-1、

- (v) 配列番号：5で表わされるアミノ酸配列の第101番目(Ser)～第112番目(Leu)のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列のN末端側に、配列番号：5で表わされるアミノ酸配列の第1番目(Met)～第100番目(Arg)のアミノ酸配列のC末端から数えて1～100個のアミノ酸が付加してもよいアミノ酸配列からなるウシRFRP-2、
- (vi) 配列番号：5で表わされるアミノ酸配列の第127番目(Leu)～第131番目(Phe)のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列のN末端側に、配列番号：5で表わされるアミノ酸配列の第1番目(Met)～第126番目(Asn)のアミノ酸配列のC末端から数えて1～126個のアミノ酸が付加してもよいアミノ酸配列からなるウシRFRP-3、
- (vii) 配列番号：9で表わされるアミノ酸配列の第90番目(Leu)～第94番目(Phe)のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列のN末端側に、配列番号：9で表わされるアミノ酸配列の第1番目(Met)～第89番目(Asn)のアミノ酸配列のC末端から数えて1～89個のアミノ酸が付加してもよいアミノ酸配列からなるマウスRFRP-1、
- (viii) 配列番号：9で表わされるアミノ酸配列の第121番目(Leu)～第125番目(Phe)のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列のN末端側に、配列番号：9で表わされるアミノ酸配列の第1番目(Met)～第120番目(Ser)のアミノ酸配列のC末端から数えて1～120個のアミノ酸が付加してもよいアミノ酸配列からなるマウスRFRP-3、
- (ix) 配列番号：7または22で表わされるアミノ酸配列の第90番目(Leu)～第94番目(Phe)のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列のN末端側に、配列番号：7または22で表わされるアミノ酸配列の第1番目(Met)～第89番目(Asn)のアミノ酸配列のC末端から数えて1～89個のアミノ酸が付加してもよいアミノ酸配列からなるラットRFRP-1、
- (x) 配列番号：7または22で表わされるアミノ酸配列の第121番目(Leu)～第125番目(Phe)のアミノ酸配列を含有し、そのアミノ酸配列のN末端側に、配列番号：7または22で表わされるアミノ酸配列の第1番

目 (Met) ~ 第 120 番目 (Ser) のアミノ酸配列の C 末端から数えて 1 ~ 120 個のアミノ酸が付加していてもよいアミノ酸配列からなるラット R F R P - 3、

5 (xi) 上記 (i) ~ (x) のペプチドのアミノ酸配列に 1 ~ 5 個のアミノ酸が付加したアミノ酸配列からなるペプチド、

(xii) 上記 (i) ~ (x) のペプチドのアミノ酸配列に 1 ~ 5 個のアミノ酸が挿入されたアミノ酸配列からなるペプチド、

(xiii) 上記 (i) ~ (x) のペプチドのアミノ酸配列中の 1 ~ 5 個のアミノ酸で置換されたアミノ酸配列からなるペプチド、または

10 (xiv) 上記 (xi) ~ (xiii) の付加・挿入・置換を組み合わせたアミノ酸配列からなるペプチドなどが用いられる。

これらの R F R P 部分ペプチドの中でも、

(i) 配列番号：1 または配列番号：3 で表わされるアミノ酸配列の第 56 番目 (Ser) ~ 第 92 番目 (Phe)、第 70 番目 (Met) ~ 第 92 番目 (Phe)、第 73 番目 (Met) ~ 第 92 番目 (Phe)、第 81 番目 (Met) ~ 第 92 番目 (Phe) または第 84 番目 (Ser) ~ 第 92 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるヒト R F R P - 1、

15 (ii) 配列番号：1 または配列番号：3 で表わされるアミノ酸配列の第 101 番目 (Ser) ~ 第 112 番目 (Ser) のアミノ酸配列からなるヒト R F R P - 2、

20 (iii) 配列番号：1 または配列番号：3 で表わされるアミノ酸配列の第 101 番目 (Asn) ~ 第 131 番目 (Phe)、第 104 番目 (Asn) ~ 第 131 番目 (Phe)、第 115 番目 (Asn) ~ 第 131 番目 (Phe)、第 124 番目 (Val) ~ 第 131 番目 (Phe)、第 125 番目 (Pro) ~ 第 131 番目 (Phe)、第 126 番目 (Asn) ~ 第 131 番目 (Phe) または第 127 番目 (Leu) ~ 第 131 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるヒト R F R P - 3、

(iv) 配列番号：5 で表わされるアミノ酸配列の第 58 番目 (Ser) ~ 第 92 番目 (Phe)、第 70 番目 (Lys) ~ 第 92 番目 (Phe)、第 73 番目 (Met)

～第92番目(Phe)、第81番目(Met)～第92番目(Phe)または第84番目(Ser)～第92番目(Phe)のアミノ酸配列からなるウシR F R P - 1、
(v) 配列番号：5で表わされるアミノ酸配列の第101番目(Ser)～第112番目(Leu)のアミノ酸配列からなるウシR F R P - 2、
5 (vi) 配列番号：5で表わされるアミノ酸配列の第101番目(Ser)～第131番目(Phe)、第104番目(Ala)～第131番目(Phe)、第115番目(Asn)～第131番目(Phe)、第124番目(Val)～第131番目(Phe)、第125番目(Pro)～第131番目(Phe)、第126番目(Asn)～第131番目(Phe)または第127番目(Leu)～第131番目(Phe)のアミノ酸配列からなるウシR F R P - 3、
10 (vii) 配列番号：9で表わされるアミノ酸配列の第58番目(Ser)～第94番目(Phe)、第72番目(Val)～第94番目(Phe)、第75番目(Met)～第94番目(Phe)、第83番目(Val)～第94番目(Phe)または第84番目(Pro)～第94番目(Phe)のアミノ酸配列からなるマウスR F R P - 1、
15 (viii) 配列番号：9で表わされるアミノ酸配列の第118番目(Phe)～第125番目(Phe)、第119番目(Pro)～第125番目(Phe)、第120番目(Ser)～第125番目(Phe)または第121番目(Leu)～第125番目(Phe)のアミノ酸配列からなるマウスR F R P - 3、
20 (ix) 配列番号：7または22で表わされるアミノ酸配列の第58番目(Ser)～第94番目(Phe)、第72番目(Asp)～第94番目(Phe)、第75番目(Met)～第94番目(Phe)、第83番目(Val)～第94番目(Phe)または第84番目(Pro)～第94番目(Phe)のアミノ酸配列からなるラットR F R P - 1、
25 (x) 配列番号：7または22で表わされるアミノ酸配列の第118番目(Phe)～第125番目(Phe)、第119番目(Pro)～第125番目(Phe)、第120番目(Ser)～第125番目(Phe)または第121番目(Leu)～第125番目(Phe)のアミノ酸配列からなるラットR F R P - 3、

- (xi) 上記 (i) ~ (x) のペプチドのアミノ酸配列中の 1 ~ 5 個のアミノ酸が欠失したアミノ酸配列からなる欠失型ペプチド、
- (xii) 上記 (i) ~ (x) のペプチドのアミノ酸配列に 1 ~ 5 個のアミノ酸が付加したアミノ酸配列からなる付加型ペプチド、
- 5 (xiii) 上記 (i) ~ (x) のペプチドのアミノ酸配列に 1 ~ 5 個のアミノ酸が挿入されたアミノ酸配列からなる挿入型ペプチド、
- (xiv) 上記 (i) ~ (x) のペプチドのアミノ酸配列中の 1 ~ 5 個のアミノ酸で置換されたアミノ酸配列からなる置換型ペプチド、または
- 10 (xv) 上記 (xi) ~ (xiv) の欠失・付加・挿入・置換を組み合わせたアミノ酸配列からなるペプチドなどが好ましく用いられる。

特にこれらのペプチドのアミド体（好ましくは、これらペプチドの C 末端のカルボキシル基 ($-COOH$) がアミド化された ($-CONH_2$) ペプチド）が好ましい。

- 具体的には、配列番号：1 で表わされるアミノ酸配列の第 81 番目 (Met) 15 ~ 第 92 番目 (Phe) のアミノ酸配列で表されるペプチドの C 末端がアミド化された ($-CONH_2$) ペプチド（配列番号：13）、配列番号：1 で表わされるアミノ酸配列の第 101 番目 (Ser) ~ 第 112 番目 (Ser) のアミノ酸配列で表されるペプチドの C 末端がアミド化された ($-CONH_2$) ペプチド（配列番号：15）および配列番号：1 で表わされるアミノ酸配列の第 12 20 4 番目 (Val) ~ 第 131 番目 (Phe) のアミノ酸配列で表されるペプチドの C 末端がアミド化された ($-CONH_2$) ペプチド（配列番号：14）などがあげられる。

R F R P または R F R P 部分ペプチドの塩としては、生理学的に許容される酸（例、無機酸、有機酸）や塩基（例、アルカリ金属塩）などとの塩が用 25 いられ、とりわけ生理学的に許容される酸付加塩が好ましい。このような塩としては、例えば、無機酸（例えば、塩酸、リン酸、臭化水素酸、硫酸）との塩、あるいは有機酸（例えば、酢酸、ギ酸、プロピオン酸、フマル酸、マレイン酸、コハク酸、酒石酸、クエン酸、リンゴ酸、蔥酸、安息香酸、メタ

ンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸)との塩などが用いられる。

R F R Pもしくはその塩またはR F R P部分ペプチドもしくはその塩は、W O 0 0 / 2 9 4 4 1号、W O 0 1 / 6 6 1 3 4号などに記載の方法に従つて製造することができる。

5 R F R PをコードするDNAとしては、前述したR F R Pをコードする塩基配列を含有するものであればいかなるものであってもよい。また、ゲノムDNA、ゲノムDNAライブラリー、前記した細胞・組織由来のc DNA、前記した細胞・組織由来のc DNAライブラリー、合成DNAのいずれでもよい。

10 ライブラリーに使用するベクターは、バクテリオファージ、プラスミド、コスミド、ファージミドなどいずれであってもよい。また、前記した細胞・組織よりtotal RNAまたはm RNA画分を調製したもの用いて直接Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction(以下、R T - P C R法と略称する)によって増幅することもできる。

15 R F R PをコードするDNAとしては、例えば、配列番号：2、配列番号：4、配列番号：6、配列番号：8、配列番号：10または配列番号：23で表わされる塩基配列を含有するDNA、または配列番号：2、配列番号：4、配列番号：6、配列番号：8、配列番号：10または配列番号：23で表わされる塩基配列とハイストリンジェントな条件下でハイブリダイズする塩基配列を有し、配列番号：1、配列番号：3、配列番号：5、配列番号：7、配列番号：9または配列番号：22で表されるアミノ酸配列からなるR F R Pと実質的に同質の活性を有するポリペプチドをコードするDNAなどであれば何れのものでもよい。

配列番号：2、配列番号：4、配列番号：6、配列番号：8、配列番号：10または配列番号：23で表わされる塩基配列とハイストリンジェントな条件下でハイブリダイズできるDNAとしては、例えば、それぞれ配列番号：2、配列番号：4、配列番号：6、配列番号：8、配列番号：10または配列番号：23で表わされる塩基配列と約70%以上、好ましくは約80%以

上、より好ましくは約90%以上、さらに好ましくは約95%以上の相同性を有する塩基配列を含有するDNAなどが用いられる。

塩基配列の相同性は、相同性計算アルゴリズムNCBI BLAST (National Center for Biotechnology Information Basic Local Alignment Search Tool) を用い、以下の条件（期待値=10；ギャップを許す；フィルタリング=ON；マッチスコア=1；ミスマッチスコア=-3）にて計算することができる。

ハイブリダイゼーションは、自体公知の方法あるいはそれに準じる方法、
10 例えば、モレキュラー・クローニング (Molecular Cloning) 2nd (J. Sambrook et al., Cold Spring Harbor Lab. Press, 1989) に記載の方法などに従って行なうことができる。また、市販のライブラリーを使用する場合、添付の使用説明書に記載の方法に従って行なうことができる。より好ましくは、ハイストリンジエントな条件に従って行なうことができる。

15 ハイストリンジエントな条件とは、例えば、ナトリウム濃度が約19～40 mM、好ましくは約19～20 mMで、温度が約50～70°C、好ましくは約60～65°Cの条件を示す。特に、ナトリウム濃度が約19 mMで温度が約65°Cの場合が最も好ましい。

より具体的には、配列番号：1で表わされるアミノ酸配列からなるヒトR
20 F R PをコードするDNAとしては、配列番号：2で表わされる塩基配列からなるDNAなどが用いられる。また、配列番号：3で表わされるアミノ酸配列からなるヒトR F R PをコードするDNAとしては、配列番号：4で表わされる塩基配列からなるDNAなどが用いられる。配列番号：5で表わされるアミノ酸配列からなるウシR F R PをコードするDNAとしては、配列番号：6で表わされる塩基配列からなるDNAなどが用いられる。配列番号：
25 7で表わされるアミノ酸配列からなるラットR F R PをコードするDNAとしては、配列番号：8で表わされる塩基配列からなるDNAなどが用いられる。配列番号：9で表わされるアミノ酸配列からなるマウスR F R Pをコー

ドするDNAとしては、配列番号：10で表わされる塩基配列からなるDNAなどが用いられる。配列番号：22で表わされるアミノ酸配列からなるラットRFPをコードするDNAとしては、配列番号：23で表わされる塩基配列からなるDNAなどが用いられる。

5 RFP部分ペプチドをコードするDNAとしては、前述したRFP部分ペプチドをコードする塩基配列を含有するものであればいかなるものであってもよい。また、ゲノムDNA、ゲノムDNAライブラリー、前記した細胞・組織由来のcDNA、前記した細胞・組織由来のcDNAライブラリー、合成DNAのいずれでもよい。

10 RFP部分ペプチドをコードするDNAとしては、例えば、配列番号：2、配列番号：4、配列番号：6、配列番号：8、配列番号：10または配列番号：23で表わされる塩基配列を含有するDNAの部分塩基配列を有するDNA、または配列番号：2、配列番号：4、配列番号：6、配列番号：8、配列番号：10または配列番号：23で表わされる塩基配列とハイストリンジエントな条件下でハイブリダイズする塩基配列を有し、配列番号：1、配列番号：3、配列番号：5、配列番号：7、配列番号：9または配列番号：22で表されるアミノ酸配列からなるRFPと実質的に同質の活性を有するポリペプチドをコードするDNAの部分塩基配列を有するDNAなどが用いられる。

20 配列番号：2、配列番号：4、配列番号：6、配列番号：8、配列番号：10または配列番号：23で表わされる塩基配列とハイブリダイズできるDNAは、前記と同意義を示す。

塩基配列の相同性は、前記した相同性計算アルゴリズムNCBIBLASTを用い、同様の条件にて計算することができる。

25 ハイブリダイゼーションの方法およびハイストリンジエントな条件は前記と同様のものが用いられる。

また、RFP部分ペプチドをコードするDNAとしてより具体的には、前記した具体的なRFP部分ペプチドをコードするDNAなどが用いられ

る。例えば、

- (i) 配列番号：1または配列番号：3で表わされるアミノ酸配列の第56番目(Ser)～第92番目(Phe)、第70番目(Met)～第92番目(Phe)、第73番目(Met)～第92番目(Phe)、第81番目(Met)～第92番目(Phe)
5 または第84番目(Ser)～第92番目(Phe)のアミノ酸配列からなるヒトRFRP-1をコードするDNAとしては、それぞれ配列番号：2または配列番号：4で表わされる塩基配列の第166番目～第276番目、第208番目～第276番目、第217番目～第276番目、第241番目～第276番目または第250番目～第276番目の塩基配列からなるDNA、
- 10 (ii) 配列番号：1または配列番号：3で表わされるアミノ酸配列の第101番目(Ser)～第112番目(Ser)のアミノ酸配列からなるヒトRFRP-2をコードするDNAとしては、それぞれ配列番号：2または配列番号：4で表わされる塩基配列の第301番目～第336番目の塩基配列からなるDNA、
- 15 (iii) 配列番号：1または配列番号：3で表わされるアミノ酸配列の第101番目(Asn)～第131番目(Phe)、第104番目(Asn)～第131番目(Phe)、第115番目(Asn)～第131番目(Phe)、第124番目(Val)～第131番目(Phe)、第125番目(Pro)～第131番目(Phe)、第126番目(Asn)～第131番目(Phe)または第127番目(Leu)～第131番目(Phe)のアミノ酸配列からなるヒトRFRP-3をコードするDNAとしては、それぞれ配列番号：2または配列番号：4で表わされる塩基配列の第301番目～第393番目、第310番目～第393番目、第343番目～第393番目、第370番目～第393番目、第373番目～第393番目、第376番目～第393番目または第379番目～第393番目の塩基配列からなるDNA、
20
- 25 (iv) 配列番号：5で表わされるアミノ酸配列の第58番目(Ser)～第92番目(Phe)、第70番目(Lys)～第92番目(Phe)、第73番目(Met)～第92番目(Phe)、第81番目(Met)～第92番目(Phe)または第84

- 番目 (Ser) ~ 第 92 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるウシ R F R P - 1 をコードする DNA としては、配列番号：6 で表わされる塩基配列の第 172 番目～第 276 番目、第 208 番目～第 276 番目、第 217 番目～第 276 番目、第 241 番目～第 276 番目または第 250 番目～第 276 番目の塩基配列からなる DNA、
- (v) 配列番号：5 で表わされるアミノ酸配列の第 101 番目 (Ser) ~ 第 112 番目 (Leu) のアミノ酸配列からなるウシ R F R P - 2 をコードする DNA としては、配列番号：6 で表わされる塩基配列の第 301 番目～第 336 番目の塩基配列からなる DNA、
- 10 (vi) 配列番号：5 で表わされるアミノ酸配列の第 101 番目 (Ser) ~ 第 131 番目 (Phe)、第 104 番目 (Ala) ~ 第 131 番目 (Phe)、第 115 番目 (Asn) ~ 第 131 番目 (Phe)、第 124 番目 (Val) ~ 第 131 番目 (Phe)、第 125 番目 (Pro) ~ 第 131 番目 (Phe)、第 126 番目 (Asn) ~ 第 131 番目 (Phe) または第 127 番目 (Leu) ~ 第 131 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるウシ R F R P - 3 をコードする DNA としては、配列番号：6 で表わされる塩基配列の第 301 番目～第 393 番目、第 310 番目～第 393 番目、第 343 番目～第 393 番目、第 370 番目～第 393 番目、第 373 番目～第 393 番目、第 376 番目～第 393 番目または第 379 番目～第 393 番目の塩基配列からなる DNA、
- 15 (vii) 配列番号：9 で表わされるアミノ酸配列の第 58 番目 (Ser) ~ 第 94 番目 (Phe)、第 72 番目 (Val) ~ 第 94 番目 (Phe)、第 75 番目 (Met) ~ 第 94 番目 (Phe)、第 83 番目 (Val) ~ 第 94 番目 (Phe) または第 84 番目 (Pro) ~ 第 94 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるマウス R F R P - 1 をコードする DNA としては、配列番号：10 で表わされる塩基配列の第 172 番目～第 282 番目、第 214 番目～第 282 番目、第 223 番目～第 282 番目、第 247 番目～第 282 番目または第 250 番目～第 282 番目の塩基配列からなる DNA、
- 20 (viii) 配列番号：9 で表わされるアミノ酸配列の第 118 番目 (Phe) ~ 第

125番目(Phe)、第119番目(Pro)～第125番目(Phe)、第120番目(Ser)～第125番目(Phe)または第121番目(Leu)～第125番目(Phe)のアミノ酸配列からなるマウスRFRP-3をコードするDNAとしては、配列番号：10で表わされる塩基配列の第352番目～第375番目、第356番目～第375番目、第358番目～第375番目または第361番目～第375番目の塩基配列からなるDNA、
5 (ix) 配列番号：7または22で表わされるアミノ酸配列の第58番目(Ser)～第94番目(Phe)、第72番目(Asp)～第94番目(Phe)、第75番目(Met)～第94番目(Phe)、第83番目(Val)～第94番目(Phe)または第84番目(Pro)～第94番目(Phe)のアミノ酸配列からなるラットRFRP-1をコードするDNAとしては、それぞれ配列番号：8または51で表わされる塩基配列の第172番目～第282番目、第214番目～第282番目、第223番目～第282番目、第247番目～第282番目または第250番目～第282番目の塩基配列からなるDNA、
10 (x) 配列番号：7または22で表わされるアミノ酸配列の第118番目(Phe)～第125番目(Phe)、第119番目(Pro)～第125番目(Phe)、第120番目(Ser)～第125番目(Phe)または第121番目(Leu)～第125番目(Phe)のアミノ酸配列からなるラットRFRP-3をコードするDNAとしては、それぞれ配列番号：8または51で表わされる塩基配列の第352番目～第375番目、第355番目～第375番目、第358番目～第375番目または第361番目～第375番目の塩基配列からなるDNAなどが用いられる。
20
25

RFRPまたはその部分ペプチドを完全にコードするDNAのクローニングは、WO 00/29441号、WO 01/66134号などに記載の方法に従って行うことができる。

また、RFRPまたはその部分ペプチドをコードするDNAからRFRPまたはその部分ペプチドを製造する場合、WO 00/29441号、WO 01/66134号などに記載の方法に従って行うことができる。

R F R P もしくはその部分ペプチド、後述の O T 7 T 0 2 2 もしくはその部分ペプチド、およびこれらをコードする D N A は、自体公知の方法で標識化されていてもよく、具体的にはアイソトープラベル化されたもの、蛍光標識されたもの（例えば、フルオレセインなどによる蛍光標識）、ビオチン化されたものまたは酵素標識されたものなどがあげられる。

R F R P もしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩、R F R P 部分ペプチドもしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩に対するレセプター蛋白質 O T 7 T 0 2 2 （以下、O T 7 T 0 2 2 と略記する）としては、例えば、配列番号：11で表わされるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質が用いられる。

O T 7 T 0 2 2 は、例えば、哺乳動物（例えば、ヒト、モルモット、ラット、マウス、ウサギ、ブタ、ヒツジ、ウシ、サルなど）のあらゆる細胞（例えば、脾細胞、神経細胞、グリア細胞、脾臓 β 細胞、骨髄細胞、メサンギウム細胞、ランゲルハンス細胞、表皮細胞、上皮細胞、内皮細胞、纖維芽細胞、15 繊維細胞、筋細胞、脂肪細胞、免疫細胞（例、マクロファージ、T細胞、B細胞、ナチュラルキラー細胞、肥満細胞、好中球、好塩基球、好酸球、单球）、巨核球、滑膜細胞、軟骨細胞、骨細胞、骨芽細胞、破骨細胞、乳腺細胞、肝細胞もしくは間質細胞、またはこれら細胞の前駆細胞、幹細胞もしくはガン細胞など）や血球系の細胞、またはそれらの細胞が存在するあらゆる組織、20 例えば、脳、脳の各部位（例、嗅球、扁頭核、大脳基底球、海馬、視床、視床下部、視床下核、大脳皮質、延髓、小脳、後頭葉、前頭葉、側頭葉、被殼、尾状核、脳染、黒質）、脊髓、下垂体、胃、脾臓、腎臓、肝臓、生殖腺、甲状腺、胆のう、骨髄、副腎、皮膚、筋肉、肺、消化管（例、大腸、小腸）、血管、心臓、胸腺、脾臓、顎下腺、末梢血、末梢血球、前立腺、睾丸、精巣、25 卵巣、胎盤、子宮、骨、関節、骨格筋など（特に、脳や脳の各部位）に由来する蛋白質であってもよく、また合成蛋白質であってもよい。

配列番号：11で表わされるアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列としては、例えば、配列番号：11で表わされるアミノ酸配列と約50%以

上、好ましくは約70%以上、より好ましくは約80%以上、さらに好ましくは約90%以上、最も好ましくは約95%以上の相同性を有するアミノ酸配列などが挙げられる。

配列番号：11で表わされるアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列を含有する蛋白質としては、例えば、配列番号：11で表わされるアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列を有し、配列番号：11で表わされるアミノ酸配列からなるOT7T022と実質的に同質の活性を有するレセプター蛋白質などが好ましく、具体的には、配列番号：24で表されるアミノ酸配列からなるレセプター蛋白質などがあげられる。

アミノ酸配列の相同性は、相同性計算アルゴリズムNCBI BLAST (National Center for Biotechnology Information Basic Local Alignment Search Tool) を用い、以下の条件（期待値=10；ギャップを許す；マトリクス=BLOSUM62；フィルタリング=OFF）にて計算することができる。

実質的に同質の活性としては、例えば、リガンド結合活性またはシグナル情報伝達作用などが挙げられる。実質的に同質とは、それらの活性が性質的に同質であることを示す。したがって、リガンド結合活性またはシグナル情報伝達作用などの活性が同等（例、約0.01～100倍、好ましくは約0.5～20倍、より好ましくは約0.5～2倍）であることが好ましいが、これらの活性の程度や蛋白質の分子量などの量的要素は異なっていてもよい。

リガンド結合活性またはシグナル情報伝達作用などの活性の測定は、自体公知の方法に準じて行なうことができるが、例えば、後述するリガンドの決定方法やスクリーニング方法に従って測定することができる。

また、OT7T022としては、①配列番号：11または配列番号：24で表わされるアミノ酸配列中の1または2個以上（好ましくは、1～30個程度、より好ましくは1～10個程度、さらに好ましくは数個（1または2個））のアミノ酸が欠失したアミノ酸配列、②配列番号：11または配列番

号：24で表わされるアミノ酸配列に1または2個以上（好ましくは、1～30個程度、より好ましくは1～10個程度、さらに好ましくは数個（1または2個））のアミノ酸が付加したアミノ酸配列、③配列番号：11または配列番号：24で表わされるアミノ酸配列中の1または2個以上（好ましくは、1～30個程度、より好ましくは1～10個程度、さらに好ましくは数個（1または2個））のアミノ酸が他のアミノ酸で置換されたアミノ酸配列、または④それら欠失・付加・置換を組み合わせたアミノ酸配列からなるレセプター蛋白質なども用いられる。

本明細書におけるOT7T022は、ペプチド標記の慣例に従って左端がN末端（アミノ末端）、右端がC末端（カルボキシル末端）である。配列番号：11で表わされるアミノ酸配列からなるOT7T022をはじめとするOT7T022は、C末端がカルボキシル基（-COOH）、カルボキシレート（-COO⁻）、アミド（-CONH₂）またはエステル（-COOR）のいずれであってもよい。

ここでエステルにおけるRとしては、例えば、メチル、エチル、n-プロピル、イソプロピルもしくはn-ブチルなどのC₁₋₆アルキル基、例えば、シクロペンチル、シクロヘキシルなどのC₃₋₈シクロアルキル基、例えば、フェニル、α-ナフチルなどのC₆₋₁₂アリール基、例えば、ベンジル、フェネチルなどのフェニル-C₁₋₂アルキル基もしくはα-ナフチルメチルなどのα-ナフチル-C₁₋₂アルキル基などのC₇₋₁₄アラルキル基のほか、経口用エステルとして汎用されるピバロイルオキシメチル基などが用いられる。

OT7T022がC末端以外にカルボキシル基（またはカルボキシレート）を有している場合、カルボキシル基がアミド化またはエステル化されているものもOT7T022の範囲に含まれる。この場合のエステルとしては、例えば上記したC末端のエステルなどが用いられる。

さらに、OT7T022には、上記したOT7T022において、N末端のメチオニン残基のアミノ基が保護基（例えば、ホルミル基、アセチルなどのC₂₋₆アルカノイル基などのC₁₋₆アシル基など）で保護されているもの、

N端側が生体内で切断され生成したグルタミル基がピログルタミン酸化したもの、分子内のアミノ酸の側鎖上の置換基（例えば、-OH、-SH、アミノ基、イミダゾール基、インドール基、グアニジノ基など）が適當な保護基（例えば、ホルミル基、アセチルなどのC₂₋₆アルカノイル基などのC₁₋₆アシル基など）で保護されているもの、あるいは糖鎖が結合したいわゆる糖蛋白質などの複合蛋白質なども含まれる。

OT7T022の具体例としては、例えば、配列番号：11で表わされるアミノ酸配列からなるラットOT7T022、配列番号：24で表されるアミノ酸配列からなるヒトOT7T022などが用いられる。

OT7T022の部分ペプチドとしては、前記したOT7T022の部分ペプチドであれば何れのものであってもよいが、例えば、OT7T022蛋白質分子のうち、細胞膜の外に露出している部位であって、レセプター結合活性を有するものなどが用いられる。

具体的には、配列番号：11または配列番号：24で表わされるアミノ酸配列からなるOT7T022の部分ペプチドとしては、疎水性プロット解析において細胞外領域（親水性（Hydrophilic）部位）であると分析された部分を含むペプチドである。また、疎水性（Hydrophobic）部位を一部に含むペプチドも同様に用いることができる。個々のドメインを個別に含むペプチドも用い得るが、複数のドメインを同時に含む部分のペプチドでも良い。

OT7T022の部分ペプチドのアミノ酸の数は、前記したOT7T022の構成アミノ酸配列のうち少なくとも20個以上、好ましくは50個以上、より好ましくは100個以上のアミノ酸配列からなるペプチドなどが好ましい。

また、OT7T022の部分ペプチドは、上記アミノ酸配列中の1または2個以上（好ましくは、1～10個程度、さらに好ましくは数個（1または2個））のアミノ酸が欠失し、または、そのアミノ酸配列に1または2個以上（好ましくは、1～20個程度、より好ましくは1～10個程度、さらに好ましくは数個（1または2個））のアミノ酸が付加し、または、そのアミ

ノ酸配列中の1または2個以上（好ましくは、1～10個程度、より好ましくは数個（1または2個））のアミノ酸が他のアミノ酸で置換されていてよい。

また、OT7T022の部分ペプチドはC末端がカルボキシル基（-COOH）、カルボキシレート（-COO⁻）、アミド（-CONH₂）またはエステル（-COOR）（Rは上記と同意義を示す）のいずれであってもよい。

OT7T022の部分ペプチドがC末端以外にカルボキシル基（またはカルボキシレート）を有している場合、カルボキシル基がアミド化またはエステル化されているものもOT7T022の範囲に含まれる。この場合のエステルとしては、例えば上記したC末端のエステルなどが用いられる。

さらに、OT7T022の部分ペプチドには、前記したOT7T022と同様に、N末端のメチオニン残基のアミノ基が保護基で保護されているもの、N端側が生体内で切断され生成したグルタミル基がピログルタミン酸化したもの、分子内のアミノ酸の側鎖上の置換基が適当な保護基で保護されているもの、あるいは糖鎖が結合したいわゆる糖ペプチドなどの複合ペプチドなども含まれる。

OT7T022またはその部分ペプチドの塩としては、とりわけ生理学的に許容される酸付加塩が好ましい。この様な塩としては、例えば無機酸（例えば、塩酸、リン酸、臭化水素酸、硫酸）との塩、あるいは有機酸（例えば、酢酸、ギ酸、プロピオン酸、フマル酸、マレイン酸、コハク酸、酒石酸、クエン酸、リンゴ酸、蔴酸、安息香酸、メタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸）との塩などが用いられる。

OT7T022またはその塩、およびOT7T022を発現する細胞またはその細胞膜画分は、WO00/29441号、WO01/66134号などに記載の方法に従って製造することができる。

OT7T022をコードするポリヌクレオチドとしては、OT7T022をコードする塩基配列（DNAまたはRNA、好ましくはDNA）を含有するものであればいかなるものであってもよい。該ポリヌクレオチドとしては、

OT7T022をコードするDNA、mRNA等のRNAであり、二本鎖であっても、一本鎖であってもよい。二本鎖の場合は、二本鎖DNA、二本鎖RNAまたはDNA:RNAのハイブリッドでもよい。一本鎖の場合は、センス鎖（即ち、コード鎖）であっても、アンチセンス鎖（即ち、非コード鎖）であってもよい。

OT7T022をコードするポリヌクレオチドを用いて、例えば、公知の実験医学増刊「新PCRとその応用」15(7)、1997記載の方法またはそれに準じた方法により、OT7T022のmRNAを定量することができる。

OT7T022をコードするDNAとしては、ゲノムDNA、ゲノムDNAライブラリー、前記した細胞・組織由来のcDNA、前記した細胞・組織由来のcDNAライブラリー、合成DNAのいずれでもよい。ライブラリーに使用するベクターは、バクテリオファージ、プラスミド、コスミド、ファージミドなどいずれであってもよい。また、前記した細胞・組織よりtotalRNAまたはmRNA画分を調製したものを用いて直接Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction（以下、RT-PCR法と略称する）によって増幅することもできる。

具体的には、OT7T022をコードするDNAとしては、例えば、配列番号：12、配列番号：25または配列番号：26で表わされる塩基配列を含有するDNA、または配列番号：12、配列番号：25または配列番号：26で表わされる塩基配列とハイストリンジェントな条件下でハイブリダイズする塩基配列を有し、配列番号：11または配列番号：24で表されるアミノ酸配列からなるOT7T022と実質的に同質の活性（例、リガンド結合活性、シグナル情報伝達作用など）を有するレセプター蛋白質をコードするDNAであれば何れのものでもよい。

配列番号：12、配列番号：25または配列番号：26で表わされる塩基配列とハイブリダイズできるDNAとしては、例えば、配列番号：12、配列番号：25または配列番号：26で表わされる塩基配列と約70%以上、好ましくは約80%以上、より好ましくは約90%以上、最も好ましくは約

95%以上の相同性を有する塩基配列を含有するDNAなどが用いられる。

塩基配列の相同性は、相同性計算アルゴリズムNCBI BLAST (National Center for Biotechnology Information Basic Local Alignment Search Tool) を用い、以下の条件（期待値=10；ギャップを許す；フィルタリング=ON；マッチスコア=1；ミスマッチスコア=-3）にて計算することができる。

ハイブリダイゼーションは、自体公知の方法あるいはそれに準じる方法、例えば、モレキュラー・クローニング (Molecular Cloning) 2nd (J. Sambrook et al., Cold Spring Harbor Lab. Press, 1989) に記載の方法などに従って行なうことができる。また、市販のライプラリーを使用する場合、添付の使用説明書に記載の方法に従って行なうことができる。より好ましくは、ハイストリンジエントな条件に従って行なうことができる。

該ハイストリンジエントな条件とは、例えば、ナトリウム濃度が約19～40mM、好ましくは約19～20mMで、温度が約50～70℃、好ましくは約60～65℃の条件を示す。特に、ナトリウム濃度が約19mMで温度が約65℃の場合が最も好ましい。

より具体的には、配列番号：11で表わされるアミノ酸配列からなるラットOT7T022をコードするDNAとしては、配列番号：12で表わされる塩基配列からなるDNAなどが用いられる。配列番号：24で表わされるアミノ酸配列からなるヒトOT7T022をコードするDNAとしては、配列番号：25または配列番号：26で表わされる塩基配列からなるDNAなどが用いられる。

OT7T022の部分ペプチドをコードするDNAとしては、前述したOT7T022の部分ペプチドをコードする塩基配列を含有するものであればいかなるものであってもよい。また、ゲノムDNA、ゲノムDNAライプラリー、前記した細胞・組織由来のcDNA、前記した細胞・組織由来のcDNAライプラリー、合成DNAのいずれでもよい。ライプラリーに使用する

ベクターは、バクテリオファージ、プラスミド、コスミド、ファージミドなどいずれであってもよい。また、前記した細胞・組織よりmRNA画分を調製したもの用いて直接Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction(以下、RT-PCR法と略称する)によって増幅することもできる。

5 具体的には、OT7T022の部分ペプチドをコードするDNAとしては、
例えは、(1)配列番号：12、配列番号：25または配列番号：26で表
わされる塩基配列を有するDNAの部分塩基配列を有するDNA、または
(2)配列番号：12、配列番号：25または配列番号：26で表わされる
塩基配列とハイストリンジエントな条件下でハイブリダイズする塩基配列を
10 有し、配列番号：11または配列番号：24で表わされるアミノ酸配列から
なるOT7T022と実質的に同質の活性(例、リガンド結合活性またはシ
グナル情報伝達作用など)を有するレセプター蛋白質をコードするDNAの
部分塩基配列を有するDNAなどが用いられる。

OT7T022またはその部分ペプチドをコードするDNAからOT7T
15 022またはその部分ペプチドを製造する場合、WO00/29441号、
WO01/66134号などに記載の方法に従って行うことができる。

RFRP、その部分ペプチド、もしくはそのアミドもしくはそのエステル
またはその塩に対する抗体は、自体公知の方法、例えはWO00/2944
1号、WO01/66134号などに記載の方法に従って製造し、使用する
20 ことができる。

OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対する抗体は、自体公
知の方法、例えはWO00/29441号、WO01/66134号などに
記載の方法に従って製造し、使用することができる。

RFRPまたはOT7T022をコードするDNAの塩基配列の一部、ま
たは該DNAと相補的な塩基配列の一部を含有してなるポリヌクレオチドと
は、上記したRFRPまたはOT7T022の部分ペプチドをコードするD
NAを包含するだけではなく、RNAをも包含する意味で用いられる。

本発明に従えば、RFRP遺伝子またはOT7T022遺伝子の複製また

は発現を阻害することのできるアンチセンス・ポリヌクレオチド（核酸）を、
クローン化した、あるいは決定されたR F R P またはO T 7 T 0 2 2 をコー
ドするD N A の塩基配列情報に基づき設計し、合成しうる。こうしたポリヌ
クレオチド（核酸）は、R F R P 遺伝子またはO T 7 T 0 2 2 遺伝子のR N
5 Aとハイブリダイズすることができ、該RNAの合成または機能を阻害する
ことができるか、あるいはR F R P 関連RNAまたはO T 7 T 0 2 2 関連R
NAとの相互作用を介してR F R P 遺伝子またはO T 7 T 0 2 2 遺伝子の発
現を調節・制御することができる。R F R P 関連RNAまたはO T 7 T 0 2
10 2 関連RNAの選択された配列に相補的なポリヌクレオチド、およびR F R
P 関連RNAまたはO T 7 T 0 2 2 関連RNAと特異的にハイブリダイズす
ることができるポリヌクレオチドは、生体内および生体外でR F R P 遺伝子
またはO T 7 T 0 2 2 遺伝子の発現を調節・制御するのに有用であり、また
病気などの治療または診断に有用である。用語「対応する」とは、遺伝子を
15 含めたヌクレオチド、塩基配列または核酸の特定の配列に相同性を有するあ
るいは相補的であることを意味する。ヌクレオチド、塩基配列または核酸と
ペプチド（蛋白質）との間で「対応する」とは、ヌクレオチド（核酸）の配
列またはその相補体から誘導される指令にあるペプチド（蛋白質）のアミノ
酸を通常指している。O T 7 T 0 2 2 遺伝子の5' 端ヘアピンループ、5'
20 端6-ベースペア・リピート、5' 端非翻訳領域、ポリペプチド翻訳開始コ
ドン、蛋白質コード領域、O R F 翻訳開始コドン、3' 端非翻訳領域、3'
端パリンドローム領域、および3' 端ヘアピンループは好ましい対象領域と
して選択しうるが、R F R P 遺伝子またはO T 7 T 0 2 2 遺伝子内の如何な
る領域も対象として選択しうる。

目的核酸と、対象領域の少なくとも一部に相補的でハイブリダイズするこ
25 とができるポリヌクレオチドとの関係は、対象物と「アンチセンス」である
ということができる。アンチセンス・ポリヌクレオチドは、2-デオキシ
D-リボースを含有しているポリデオキシリボヌクレオチド、D-リボース
を含有しているポリリボヌクレオチド、プリンまたはピリミジン塩基のN-

グリコシドであるその他のタイプのポリヌクレオチド、あるいは非ヌクレオチド骨格を有するその他のポリマー（例えば、市販の蛋白質核酸および合成配列特異的な核酸ポリマー）または特殊な結合を含有するその他のポリマー（但し、該ポリマーはDNAやRNA中に見出されるような塩基のペアリングや塩基の付着を許容する配置をもつヌクレオチドを含有する）などが挙げられる。それらは、2本鎖DNA、1本鎖DNA、2本鎖RNA、1本鎖RNA、さらにDNA:RNAハイブリッドであることができ、さらに非修飾ポリヌクレオチド（または非修飾オリゴヌクレオチド）、さらには公知の修飾の付加されたもの、例えば当該分野で知られた標識のあるもの、キャップの付いたもの、メチル化されたもの、1個以上の天然のヌクレオチドを類縁物で置換したもの、分子内ヌクレオチド修飾のされたもの、例えば非荷電結合（例えば、メチルホスホネート、ホスホトリエステル、ホスホルアミデート、カルバメートなど）を持つもの、電荷を有する結合または硫黄含有結合（例えば、ホスホロチオエート、ホスホロジチオエートなど）を持つもの、
10 例えれば蛋白質（ヌクレアーゼ、ヌクレアーゼ・インヒビター、トキシン、抗体、シグナルペプチド、ポリーレーリジンなど）や糖（例えば、モノサッカライドなど）などの側鎖基を有しているもの、インターナント化合物（例えれば、アクリジン、プソラレンなど）を持つもの、キレート化合物（例えれば、金属、放射活性をもつ金属、ホウ素、酸化性の金属など）を含有するもの、
15 アルキル化剤を含有するもの、修飾された結合を持つもの（例えれば、 α -アノマー型の核酸など）であってもよい。ここで「ヌクレオシド」、「ヌクレオチド」および「核酸」とは、プリンおよびピリミジン塩基を含有するのみでなく、修飾されたその他の複素環型塩基をもつようなものを含んでいて良い。こうした修飾物は、メチル化されたプリンおよびピリミジン、アシル化されたプリンおよびピリミジン、あるいはその他の複素環を含むものであってよい。修飾されたヌクレオチドおよび修飾されたヌクレオチドはまた糖部分が修飾されていてよく、例えば、1個以上の水酸基がハロゲンとか、脂肪族基などで置換されてたり、あるいはエーテル、アミンなどの官能基に変換さ
20
25

れていてよい。

本発明のアンチセンス・ポリヌクレオチド（核酸）は、RNA、DNA、あるいは修飾された核酸（RNA、DNA）である。修飾された核酸の具体例としては核酸の硫黄誘導体やチオホスフェート誘導体、そしてポリヌクレオシドアミドやオリゴヌクレオシドアミドの分解に抵抗性のものが挙げられるが、それに限定されるものではない。本発明のアンチセンス核酸は次のような方針で好ましく設計されうる。すなわち、細胞内でのアンチセンス核酸をより安定なものにする、アンチセンス核酸の細胞透過性をより高める、目標とするセンス鎖に対する親和性をより大きなものにする、そしてもし毒性があるならアンチセンス核酸の毒性をより小さなものにする。

こうして修飾は当該分野で数多く知られており、例えば J. Kawakami et al., Pharm Tech Japan, Vol. 8, pp. 247, 1992; Vol. 8, pp. 395, 1992; S. T. Crooke et al. ed., Antisense Research and Applications, CRC Press, 1993 などに開示がある。

本発明のアンチセンス核酸は、変化せしめられたり、修飾された糖、塩基、結合を含有していて良く、リポゾーム、ミクロスフェアのような特殊な形態で供与されたり、遺伝子治療により適用されたり、付加された形態で与えられることができうる。こうして付加形態で用いられるものとしては、リン酸基骨格の電荷を中和するように働くポリリジンのようなポリカチオン体、細胞膜との相互作用を高めたり、核酸の取込みを増大せしめるような脂質（例えば、ホスホリピド、コレステロールなど）といった粗水性のものが挙げられる。付加するに好ましい脂質としては、コレステロールやその誘導体（例えば、コレステリルクロロホルムエート、コール酸など）が挙げられる。こうしたものは、核酸の3'端あるいは5'端に付着させることができ、塩基、糖、分子内ヌクレオシド結合を介して付着させることができうる。その他の基としては、核酸の3'端あるいは5'端に特異的に配置されたキャップ用の基で、エキソヌクレアーゼ、RNaseなどのヌクレアーゼによる分解を阻止するためのものが挙げられる。こうしたキャップ用の基としては、ポリ

エチレングリコール、テトラエチレングリコールなどのグリコールをはじめとした当該分野で知られた水酸基の保護基が挙げられるが、それに限定されるものではない。

5 アンチセンス核酸の阻害活性は、本発明の形質転換体、本発明の生体内や生体外の遺伝子発現系、あるいはG蛋白質共役型レセプター蛋白質の生体内や生体外の翻訳系を用いて調べることができる。該核酸それ自体公知の各種の方法で細胞に適用できる。

10 R F R P または O T 7 T 0 2 2 をコードするポリヌクレオチドに対する s i RNA (以下、本発明の s i RNA) は、R F R P または O T 7 T 0 2 2 をコードする RNA の一部とそれに相補的な RNA を含有する二重鎖 RNA である。

s i RNA は、公知の方法 (例、Nature, 411巻, 494頁, 2001年) に準じて、本発明のポリヌクレオチドの配列を基に設計して製造することができる。

15 R F R P または O T 7 T 0 2 2 をコードする RNA の一部を含有するリボザイムは、公知の方法 (例、TRENDS in Molecular Medicine, 7巻, 221頁, 2001 年) に準じて、本発明のポリヌクレオチドの配列を基に設計して製造することができる。例えば、公知のリボザイムの配列の一部を R F R P または O T 7 T 0 2 2 をコードする RNA の一部に置換することによって製造することができる。R F R P または O T 7 T 0 2 2 をコードする RNA の一部としては、公知のリボザイムによって切断され得るコンセンサス配列 N U X (式中、N はすべての塩基を、X は G 以外の塩基を示す) の近傍の配列などが挙げられる。

20 後述するように、O T 7 T 0 2 2 を欠損した非ヒト哺乳動物の表現型から、R F R P および O T 7 T 0 2 2 は、例えば、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量 (特に、夜間自発行動量) の増加、筋力低下など、特に筋疾患、副腎

機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下などに関与していることが分かった。

したがって、①RFRP、その部分ペプチド、もしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩（以下、RFRPと略記する）、②RFRPをコードするDNA、③RFRPに対する抗体、④RFRPをコードするDNAに対するアンチセンスDNA、⑤OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩（OT7T022と略記する）、⑥OT7T022をコードするDNA、⑦OT7T022に対する抗体、⑧OT7T022をコードするDNAに対するアンチセンスDNAは、以下のような用途を有している。

（1）RFRPの機能不全に関連する疾患の予防・治療・改善剤

a) RFRP、b) RFRPをコードするDNA、c) OT7T022またはd) OT7T022をコードするDNAを、RFRPまたはOT7T022の機能不全に関連する疾患の予防・治療・改善剤などの医薬として使用することができる。

例えば、生体内においてRFRPまたはOT7T022が減少しているために、RFRPまたはOT7T022の機能が期待できない患者がいる場合に、a) RFRPを該患者に投与し該RFRPの量を補充したり、b) (イ) RFRPをコードするDNAまたはOT7T022をコードするDNAを該患者に投与し発現させることによって、あるいは(ロ)対象となる細胞にRFRPをコードするDNAまたはOT7T022をコードするDNAを挿入し発現させた後に、該細胞を該患者に移植することなどによって、患者の体内におけるRFRPまたはOT7T022の量を増加させ、RFRPまたはOT7T022の機能を充分に発揮させることができる。すなわち、RFRPをコードするDNAまたはOT7T022をコードするDNAは、安全で低毒性なRFRPまたはOT7T022の機能不全に関連する疾患の予防および／または治療剤として有用である。

具体的には、a) RFRP、b) RFRPをコードするDNA、c) OT

7 T 0 2 2 または d) OT 7 T 0 2 2 をコードするDNAは、例えば、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加、筋力低下など、特に、筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤として使用することができる。
5 血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加、筋力低下など、特に、筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤として使用することができる。

10 R F R P または OT 7 T 0 2 2 を上記予防・治療・改善剤として使用する場合は、常套手段に従って製剤化することができる。

一方、R F R P をコードするDNAまたはOT 7 T 0 2 2 をコードするDNAを上記予防・治療・改善剤として使用する場合は、これらDNAを単独あるいはレトロウイルスベクター、アデノウイルスベクター、アデノウイルスアソシエーテッドウイルスベクターなどの適当なベクターに挿入した後、常套手段に従って実施することができる。DNAは、そのままで、あるいは摂取促進のための補助剤とともに、遺伝子錠やハイドロゲルカテーテルのようなカテーテルによって投与できる。
15 常套手段に従って実施することができる。DNAは、そのまま、あるいは摂取促進のための補助剤とともに、遺伝子錠やハイドロゲルカテーテルのようなカテーテルによって投与できる。

例えば、a) R F R P 、 b) R F R P をコードするDNA、c) OT 7 T 0 2 2 または d) OT 7 T 0 2 2 をコードするDNAは、必要に応じて糖衣を施した錠剤、カプセル剤、エリキシル剤、マイクロカプセル剤などとして経口的に、あるいは水もしくはそれ以外の薬学的に許容し得る液との無菌性溶液、または懸濁液剤などの注射剤の形で非経口的に使用できる。例えば、a) R F R P 、 b) R F R P をコードするDNA、c) OT 7 T 0 2 2 または d) OT 7 T 0 2 2 をコードするDNAを生理学的に認められる公知の担体、香味剤、賦形剤、ベヒクル、防腐剤、安定剤、結合剤などとともに一般に認められた製剤実施に要求される単位用量形態で混和することによって製造することができる。これら製剤における有効成分量は指示された範囲の適

当な容量が得られるようにするものである。

錠剤、カプセル剤などに混和することができる添加剤としては、例えば、ゼラチン、コーンスターク、トラガント、アラビアゴムのような結合剤、結晶性セルロースのような賦形剤、コーンスターク、ゼラチン、アルギン酸などのような膨化剤、ステアリン酸マグネシウムのような潤滑剤、ショ糖、乳糖またはサッカリンのような甘味剤、ペパーミント、アカモノ油またはチエリーのような香味剤などが用いられる。調剤単位形態がカプセルである場合には、上記タイプの材料にさらに油脂のような液状担体を含有することができる。注射のための無菌組成物は注射用水のようなベヒクル中の活性物質、胡麻油、椰子油などのような天然産出植物油などを溶解または懸濁させるなどの通常の製剤実施に従って処方することができる。注射用の水性液としては、例えば、生理食塩水、ブドウ糖やその他の補助薬を含む等張液（例えば、D-ソルビトール、D-マンニトール、塩化ナトリウムなど）などが用いられ、適当な溶解補助剤、例えば、アルコール（例、エタノール）、ポリアルコール（例、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール）、非イオン性界面活性剤（例、ポリソルベート 80^{T M}、HCO-50）などと併用してもよい。油性液としては、例えば、ゴマ油、大豆油などが用いられ、溶解補助剤である安息香酸ベンジル、ベンジルアルコールなどと併用してもよい。

また、上記予防・治療・改善剤は、例えば、緩衝剤（例えば、リン酸塩緩衝液、酢酸ナトリウム緩衝液）、無痛化剤（例えば、塩化ベンザルコニウム、塩酸プロカインなど）、安定剤（例えば、ヒト血清アルブミン、ポリエチレングリコールなど）、保存剤（例えば、ベンジルアルコール、フェノールなど）、酸化防止剤などと配合してもよい。調製された注射液は通常、適当なアンプルに充填される。

このようにして得られる製剤は安全で低毒性であるので、例えば、ヒトや哺乳動物（例えば、ラット、マウス、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ネコ、イヌ、サルなど）に対して投与することができる。

R F R P の投与量は、投与対象、対象臓器、症状、投与方法などにより差

異はあるが、経口投与の場合、一般的に例えば、痛覚障害患者（体重60kgとして）においては、一日につき約0.1～100mg、好ましくは約1.0～50mg、より好ましくは約1.0～20mgである。非経口的に投与する場合は、その1回投与量は投与対象、対象臓器、症状、投与方法などによっても異なるが、例えば、注射剤の形では通常例えば、痛覚障害患者（体重60kgとして）においては、一日につき約0.01～30mg程度、好ましくは約0.1～20mg程度、より好ましくは約0.1～10mg程度を静脈注射により投与するのが好都合である。他の動物の場合も、体重60kg当たりに換算した量を投与することができる。

DNAの投与量は、投与対象、対象臓器、症状、投与方法などにより差異はあるが、経口投与の場合、一般的に例えば、痛覚障害患者（体重60kgとして）においては、一日につき約0.1～100mg、好ましくは約1.0～50mg、より好ましくは約1.0～20mgである。非経口的に投与する場合は、その1回投与量は投与対象、対象臓器、症状、投与方法などによっても異なるが、例えば、注射剤の形では通常例えば、痛覚障害患者（体重60kgとして）においては、一日につき約0.01～30mg程度、好ましくは約0.1～20mg程度、より好ましくは約0.1～10mg程度を静脈注射により投与するのが好都合である。他の動物の場合も、体重60kg当たりに換算した量を投与することができる。

20 (2) 遺伝子診断剤

R F R PをコードするDNA、O T 7 T 0 2 2をコードするDNA、またはこれらDNAに対するアンチセンスDNAは、プローブとして使用することにより、ヒトまたは哺乳動物（例えば、ラット、マウス、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ネコ、イヌ、サルなど）におけるR F R PまたはO T 7 T 0 2 2をコードするDNAまたはmRNAの異常（遺伝子異常）を検出することができる、例えば、該DNAまたはmRNAの損傷、突然変異あるいは発現低下や、該DNAまたはmRNAの増加あるいは発現過多などの遺伝子診断剤として有用である。

DNAまたはアンチセンスDNAを用いる上記の遺伝子診断は、例えば、自体公知のノーザンハイブリダイゼーションやPCR-SSCP法（ゲノミックス（Genomics）, 第5巻, 874~879頁（1989年）、プロシージングズ・オブ・ザ・ナショナル・アカデミー・オブ・サイエンシズ・オブ・ユースエー（Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America）, 第86巻, 2766~2770頁（1989年））などにより実施することができる。

例えば、ノーザンハイブリダイゼーションによりRFRPまたはOT7T022の発現低下または発現過剰が検出された場合は、例えば、RFRPまたはOT7T022の機能不全または過剰発現に関連する疾患である可能性が高いまたは将来罹患する可能性が高いと診断することができる。

RFRPまたはOT7T022の機能不全または過剰発現に関連する疾患としては、例えば、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温変化、白血球数変化、血小板数変化、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の変化、筋力変化など、特に筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温変化、白血球数変化、血小板数変化、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の変化または筋力変化などが挙げられる。

特に、RFRPまたはOT7T022の機能不全に関連する疾患としては、例えば、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加、筋力低下など、特に筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加、筋力低下などが挙げられる。

一方、RFRPまたはOT7T022の過剰発現に関連する疾患としては、

例えば、筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少、痛み、モルヒネ耐性、特に筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少などが挙げられる。

5 (3) R F R P または O T 7 T 0 2 2 の発現量を変化させる化合物またはその塩を含有する医薬

R F R P または O T 7 T 0 2 2 をコードするDNAは、プローブとして用いることにより、R F R P または O T 7 T 0 2 2 の発現量を変化させる化合物またはその塩のスクリーニングに用いることができる。

10 すなわち、本発明は、例えば、(i) 非ヒト哺乳動物の a) 血液、b) 特定の臓器、c) 臓器から単離した組織もしくは細胞、または(ii) 形質転換体等に含まれるR F R P または O T 7 T 0 2 2 のmRNA量を測定することによる、R F R P または O T 7 T 0 2 2 の発現量を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法を提供する。

15 R F R P または O T 7 T 0 2 2 のmRNA量の測定は具体的には以下のようにして行なう。

(i) 正常あるいは疾患モデル非ヒト哺乳動物（例えば、マウス、ラット、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ネコ、イヌ、サルなど、より具体的には免疫不全モデルラット、マウス、ウサギなど）に対して、薬剤（例えば、免疫調節薬など）あるいは物理的ストレス（例えば、浸水ストレス、電気ショック、明暗、低温など）などを与え、一定時間経過した後に、血液、あるいは特定の臓器（例えば、脳、肝臓、腎臓など）、または臓器から単離した組織、あるいは細胞を得る。

得られた細胞に含まれるR F R P または O T 7 T 0 2 2 のmRNAは、例えば、通常の方法により細胞等からmRNAを抽出し、例えば、T a q M a n PCRなどの手法を用いることにより定量することができ、自体公知の手段によりノーザンプロットを行うことにより解析することもできる。

(ii) R F R P または O T 7 T 0 2 2 を発現する形質転換体を WO 00 /

29441号またはWO 01/66134号に記載の方法に従い作製し、該形質転換体に含まれるR F R P またはO T 7 T 0 2 2 のm R N Aを同様にして定量、解析することができる。

R F R P またはO T 7 T 0 2 2 の発現量を変化させる化合物またはその塩
5 のスクリーニングは、

(i) 正常あるいは疾患モデル非ヒト哺乳動物に対して、薬剤あるいは物理的ストレスなどを与える一定時間前（30分前～24時間前、好ましくは30分前～12時間前、より好ましくは1時間前～6時間前）もしくは一定時間後（30分後～3日後、好ましくは1時間後～2日後、より好ましくは1時間後～24時間後）、または薬剤あるいは物理的ストレスと同時に試験化合物を投与し、投与後一定時間経過後（30分後～3日後、好ましくは1時間後～2日後、より好ましくは1時間後～24時間後）、細胞に含まれるR F R P またはO T 7 T 0 2 2 のm R N A量を定量、解析することにより行なうことができ、
10

15 (ii) 形質転換体を常法に従い培養する際に試験化合物を培地中に混合させ、一定時間培養後（1日後～7日後、好ましくは1日後～3日後、より好ましくは2日後～3日後）、該形質転換体に含まれるR F R P またはO T 7 T 0 2 2 のm R N A量を定量、解析することにより行なうことができる。

試験化合物としては、例えば、ペプチド、蛋白質、非ペプチド性化合物、
20 合成化合物、発酵生産物、細胞抽出液、植物抽出液、動物組織抽出液、血漿などが用いられ、これら化合物は新規な化合物であってもよいし、公知の化合物であってもよい。

試験化合物は塩を形成していてもよく、試験化合物の塩としては、生理学的に許容される酸（例、無機酸など）や塩基（例、有機酸など）などとの塩
25 が用いられ、とりわけ生理学的に許容される酸付加塩が好ましい。この様な塩としては、例えば、無機酸（例えば、塩酸、リン酸、臭化水素酸、硫酸など）との塩、あるいは有機酸（例えば、酢酸、ギ酸、プロピオン酸、フマル酸、マレイン酸、コハク酸、酒石酸、クエン酸、リンゴ酸、蔥酸、安息香酸、

メタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸など)との塩などが用いられる。

本発明のスクリーニング方法を用いて得られる化合物またはその塩は、R F R P または O T 7 T 0 2 2 の発現量を変化させる作用を有する化合物またはその塩であり、具体的には、(イ) R F R P または O T 7 T 0 2 2 の発現量を増加させることにより、O T 7 T 0 2 2 を介する細胞刺激活性(例えば、アラキドン酸遊離、アセチルコリン遊離、細胞内 Ca^{2+} 遊離、細胞内 cAMP 生成、細胞内 c AMP 生成抑制、細胞内 c GMP 生成、イノシトールリン酸産生、細胞膜電位変動、細胞内蛋白質のリン酸化、c-fos の活性化、pH の低下などを促進する活性または抑制する活性など)を増強させる化合物またはその塩、(ロ) R F R P の発現量を減少させることにより、該細胞刺激活性を減弱させる化合物またはその塩である。

本発明のスクリーニング方法を用いて得られる化合物としては、ペプチド、蛋白質、非ペプチド性化合物、合成化合物、発酵生産物、細胞抽出液、植物抽出液、動物組織抽出液、血漿などが挙げられ、これら化合物は新規な化合物であってもよいし、公知の化合物であってもよい。

該化合物の塩としては、前記した R F R P の塩と同様のものが用いられる。上記スクリーニング方法で得られる R F R P または O T 7 T 0 2 2 の発現量を増加させる化合物またはその塩は、例えば、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温変化、白血球数変化、血小板数変化、自発行動量(特に、夜間自発行動量)の変化、筋力変化など、好ましくは筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温変化、白血球数変化、血小板数変化、自発行動量(特に、夜間自発行動量)の変化または筋力変化、特に筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量(特に、夜間自発行動量)の増加、筋力低下に対する安全で低毒性な予防・治療・改善剤として用いることができる。

上記スクリーニング方法で得られるR F R P またはO T 7 T 0 2 2 の発現量を減少させる化合物またはその塩は、例えば、筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少に対する安全で低毒性な予防・治療・改善剤、鎮痛剤、モルヒネの鎮痛作用促進剤、モルヒネ耐性回避剤、モルヒネ依存性回避剤などとして用いることができる。

本発明のスクリーニング方法を用いて得られる化合物またはその塩を医薬組成物として使用する場合、常套手段に従って製剤化することができる。具体的には、上記したR F R P を含有する予防・治療・改善剤と同様に製造することができる。

得られる製剤は安全で低毒性であるので、例えば、ヒトや哺乳動物（例えば、ラット、マウス、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ネコ、イヌ、サルなど）に対して投与することができる。

該化合物またはその塩の投与量は、投与対象、対象臓器、症状、投与方法などにより差異はあるが、経口投与の場合、一般的に例えば、痛覚障害患者（体重60kgとして）においては、一日につきR F R P またはO T 7 T 0 2 2 の発現量を増加させる化合物またはその塩を約0.1～100mg、好ましくは約1.0～50mg、より好ましくは約1.0～20mgである。非経口的に投与する場合は、その1回投与量は投与対象、対象臓器、症状、投与方法などによっても異なるが、例えば、注射剤の形では、通常例えば、痛覚障害患者（体重60kgとして）においては、一日につきR F R P またはO T 7 T 0 2 2 の発現量を増加させる化合物またはその塩を約0.01～30mg程度、好ましくは約0.1～20mg程度、より好ましくは約0.1～10mg程度を静脈注射により投与するのが好都合である。他の動物の場合も、体重60kg当たりに換算した量を投与することができる。

（4）抗体を用いる診断方法

R F R P またはO T 7 T 0 2 2 に対する抗体（以下、本発明の抗体と略記する）は、R F R P またはO T 7 T 0 2 2 を特異的に認識することができる

ので、被検液中のR.F.R.P または O.T.7.T.0.2.2 の検出や中和に使用することができる。

すなわち、本発明は、

(i) 本発明の抗体と、被検液および標識化されたR.F.R.P または O.T.7.T.0.2.2 を競合的に反応させ、該抗体に結合した標識化されたR.F.R.P または O.T.7.T.0.2.2 の割合を測定することを特徴とする被検液中のR.F.R.P または O.T.7.T.0.2.2 の定量法、および

5 (ii) 被検液と担体上に不溶化した本発明の抗体および標識化された本発明の別の抗体とを同時あるいは連続的に反応させたのち、不溶化担体上の標識剤の活性を測定することを特徴とする被検液中のR.F.R.P または O.T.7.T.0.2.2 の定量法を提供する。

10 上記 (ii) の定量法においては、一方の抗体がR.F.R.P または O.T.7.T.0.2.2 のN端部を認識する抗体で、他方の抗体がR.F.R.P または O.T.7.T.0.2.2 のC端部に反応する抗体であることが望ましい。

15 また、R.F.R.P または O.T.7.T.0.2.2 に対するモノクローナル抗体（以下、本発明のモノクローナル抗体）を用いてR.F.R.P または O.T.7.T.0.2.2 の定量を行うことができるほか、組織染色等による検出を行なうこともできる。これらの目的には、抗体分子そのものを用いてもよく、また、抗体分子のF(a-b')₂、F(ab')、あるいはF(ab)画分を用いてもよい。

20 本発明の抗体を用いるR.F.R.P または O.T.7.T.0.2.2 の定量法は、特に制限されるべきものではなく、被測定液中の抗原量（例えば、R.F.R.P 量または O.T.7.T.0.2.2 量）に対応した抗体、抗原もしくは抗体-抗原複合体の量を化学的または物理的手段により検出し、これを既知量の抗原を含む標準液を用いて作製した標準曲線より算出する測定法であれば、いずれの測定法を用いてもよい。例えば、ネフロメトリー、競合法、イムノメトリック法およびサンドイッチ法が好適に用いられるが、感度、特異性の点で、後述するサンドイッチ法を用いるのが特に好ましい。

25 標識物質を用いる測定法に用いられる標識剤としては、例えば、放射性同

- 位元素、酵素、蛍光物質、発光物質などが用いられる。放射性同位元素としては、例えば、 $[^{125}\text{I}]$ 、 $[^{131}\text{I}]$ 、 $[^3\text{H}]$ 、 $[^{14}\text{C}]$ などが用いられる。上記酵素としては、安定で比活性の大きなものが好ましく、例えば、 β -ガラクトシダーゼ、 β -グルコシダーゼ、アルカリフェオヌファターゼ、パ
5 一オキシダーゼ、リンゴ酸脱水素酵素などが用いられる。蛍光物質としては、例えば、フルオレスカミン、フルオレッセンイソチオシアネートなどが用いられる。発光物質としては、例えば、ルミノール、ルミノール誘導体、ルシフェリン、ルシゲニンなどが用いられる。さらに、抗体あるいは抗原と標識剤との結合にビオチン-アビジン系を用いることもできる。
- 10 抗原あるいは抗体の不溶化に当っては、物理吸着を用いてもよく、また通常酵素等を不溶化、固定化するのに用いられる化学結合を用いる方法でもよい。担体としては、アガロース、デキストラン、セルロースなどの不溶性多糖類、ポリスチレン、ポリアクリルアミド、シリコン等の合成樹脂、あるいはガラス等があげられる。
- 15 サンドイッチ法においては不溶化した本発明のモノクローナル抗体に被検液を反応させ（1次反応）、さらに標識化した別の本発明のモノクローナル抗体を反応させ（2次反応）たのち、不溶化担体上の標識剤の活性を測定することにより被検液中のR F R P量を定量することができる。1次反応と2次反応は逆の順序に行っても、また、同時に行なってもよいし時間をずらして行なってもよい。標識化剤および不溶化の方法は前記のそれらに準じることができる。また、サンドイッチ法による免疫測定法において、固相用抗体あるいは標識用抗体に用いられる抗体は必ずしも1種類である必要はなく、測定感度を向上させる等の目的で2種類以上の抗体の混合物を用いてもよい。
20 本発明のサンドイッチ法によるR F R PまたはO T 7 T 0 2 2の測定法においては、1次反応と2次反応に用いられる本発明のモノクローナル抗体は、R F R PまたはO T 7 T 0 2 2の結合する部位が相異なる抗体が好ましく用いられる。すなわち、1次反応および2次反応に用いられる抗体は、例えば、2次反応で用いられる抗体が、R F R PまたはO T 7 T 0 2 2のC端部を認

識する場合、1次反応で用いられる抗体は、好ましくはC端部以外、例えばN端部を認識する抗体が用いられる。

本発明のモノクローナル抗体をサンドイッチ法以外の測定システム、例えば、競合法、イムノメトリック法あるいはネフロメトリーなどに用いること
5 ができる。

競合法では、被検液中の抗原と標識抗原とを抗体に対して競合的に反応させたのち、未反応の標識抗原(F)と、抗体と結合した標識抗原(B)とを分離し(B/F分離)、B, Fいずれかの標識量を測定し、被検液中の抗原量を定量する。本反応法には、抗体として可溶性抗体を用い、B/F分離をポリエチレングリコール、前記抗体に対する第2抗体などを用いる液相法、お
10 よび、第1抗体として固相化抗体を用いるか、あるいは、第1抗体は可溶性のものを用い第2抗体として固相化抗体を用いる固相化法とが用いられる。

イムノメトリック法では、被検液中の抗原と固相化抗原とを一定量の標識化抗体に対して競合反応させた後、固相と液相を分離するか、あるいは、被
15 検液中の抗原と過剰量の標識化抗体とを反応させ、次に固相化抗原を加え未反応の標識化抗体を固相に結合させた後、固相と液相を分離する。次に、いずれかの相の標識量を測定し被検液中の抗原量を定量する。

また、ネフロメトリーでは、ゲル内あるいは溶液中で抗原抗体反応の結果生じた不溶性の沈降物の量を測定する。被検液中の抗原量が僅かであり、少量の沈降物しか得られない場合にもレーザーの散乱を利用するレーザーネフロメトリーなどが好適に用いられる。
20

これら個々の免疫学的測定法を本発明の定量方法に適用するにあたっては、特別の条件、操作等の設定は必要とされない。それぞれの方法における通常の条件、操作法に当業者の通常の技術的配慮を加えてRFRPまたはOT7
25 T022の測定系を構築すればよい。これらの一般的な技術手段の詳細については、総説、成書などを参考することができる。

例えば、入江 寛編「ラジオイムノアッセイ」(講談社、昭和49年発行)、
入江 寛編「続ラジオイムノアッセイ」(講談社、昭和54年発行)、石川

栄治ら編「酵素免疫測定法」（医学書院、昭和53年発行）、石川栄治ら編「酵素免疫測定法」（第2版）（医学書院、昭和57年発行）、石川栄治ら編「酵素免疫測定法」（第3版）（医学書院、昭和62年発行）、「Methods in ENZYMOLOGY」Vol. 70(Immunochemical Techniques(Part A))、同書 Vol. 5 73(Immunochemical Techniques(Part B))、同書 Vol. 74(Immunochemical Techniques(Part C))、同書 Vol. 84(Immunochemical Techniques(Part D : Selected Immunoassays))、同書 Vol. 92(Immunochemical Techniques(Part E : Monoclonal Antibodies and General Immunoassay Methods))、同書 Vol. 10 121(Immunochemical Techniques(Part I : Hybridoma Technology and Monoclonal Antibodies))（以上、アカデミックプレス社発行）などを参考することができる。

以上のようにして、本発明の抗体を用いることによって、R F R P または O T 7 T 0 2 2 を感度良く定量することができる。

さらには、本発明の抗体を用いてR F R P またはO T 7 T 0 2 2 の濃度を定量することによって、R F R P またはO T 7 T 0 2 2 の濃度の減少が検出された場合、例えば、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加、筋力低下など、特に筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下などの疾患である、または将来罹患する可能性が高いと診断することができる。

また、R F R P またはO T 7 T 0 2 2 の濃度の増加が検出された場合には、例えば、筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少、痛み、モルヒネ耐性などの疾患である、または将来罹患する可能性が高いと診断することができる。

(5) R F R P とO T 7 T 0 2 2 との結合性またはシグナル伝達を変化させ

る化合物またはその塩（アゴニスト、アンタゴニストなど）のスクリーニング方法、およびR F R PとOT 7 T 0 2 2との結合性またはシグナル伝達を変化させる化合物またはその塩を含有する医薬

OT 7 T 0 2 2を用いるか、または組換え型OT 7 T 0 2 2の発現系を構築し、該発現系を用いたレセプター結合アッセイ系を用いることによって、
5 例え、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、
体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加、筋力低下、体温減少、白血球数増加、血小板数増加、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少、痛み、モルヒネ耐性などの予防・治療・
改善薬として有用なR F R PとOT 7 T 0 2 2との結合性またはシグナル伝達を変化させる化合物（例え、ペプチド、蛋白質、非ペプチド性化合物、合成化合物、発酵生産物など）またはその塩を効率よくスクリーニングする
10 ことができる。
15

このような化合物には、（イ）OT 7 T 0 2 2を介して細胞刺激活性（例え、アラキドン酸遊離、アセチルコリン遊離、細胞内Ca²⁺遊離、細胞内cAMP生成、細胞内cAMP生成抑制、細胞内cGMP生成、イノシトールリン酸産生、細胞膜電位変動、細胞内蛋白質のリン酸化、c-fosの活性化、pHの低下などを促進する活性または抑制する活性など）を有する化合物（いわゆる、OT 7 T 0 2 2アゴニスト）、（ロ）OT 7 T 0 2 2を介する細胞刺激活性を阻害する化合物（いわゆる、OT 7 T 0 2 2アンタゴニスト）、（ハ）R F R PとOT 7 T 0 2 2との結合力を増強する化合物、または（ニ）R F R PとOT 7 T 0 2 2との結合力を減少させる化合物など
20 が含まれる。
25

すなわち、本発明は、

（1）R F R Pおよび（または）OT 7 T 0 2 2を用いることを特徴とする痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫

疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加、筋力低下、体温減少、白血球数增加、血小板数增加、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少、痛み、モルヒネ耐性など、特に痛覚障害、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加、筋力低下、体温減少、白血球数增加、血小板数增加、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少などの予防・治療・改善薬のスクリーニング方法、

10 (2) (i) R F R P と O T 7 T 0 2 2 とを接触させた場合と (ii) R F R P と O T 7 T 0 2 2 および試験化合物とを接触させた場合との比較を行なうことの特徴とする痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加、筋力低下、体温減少、白血球数增加、血小板数增加、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少、痛み、モルヒネ耐性など、特に痛覚障害、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加、筋力低下、体温減少、白血球数增加、血小板数增加、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少の予防・治療・改善薬のスクリーニング方法を提供する。

痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加、筋力低下、体温減少、白血球数增加、血小板数增加、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少、痛み、モルヒネ耐性などの予防・治療・改善薬は、R F R P と O T 7 T 0 2 2 との結合性またはシグナル伝達を変化させ

る化合物またはその塩である。

本発明のスクリーニング方法においては、(i)と(ii)の場合における、例えば、OT7T022に対するRFRPの結合量、細胞刺激活性などを測定して、比較することを特徴とする。

5 より具体的には、本発明は、

- a) 標識したRFRPを、OT7T022に接触させた場合と、標識したRFRPおよび試験化合物をOT7T022に接触させた場合における、標識したRFRPのOT7T022に対する結合量を測定し、比較することを特徴とするRFRPとOT7T022との結合性またはシグナル伝達を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法、
- b) 標識したRFRPを、OT7T022を含有する細胞または該細胞の膜画分に接触させた場合と、標識したRFRPおよび試験化合物をOT7T022を含有する細胞または該細胞の膜画分に接触させた場合における、標識したRFRPの該細胞または該膜画分に対する結合量を測定し、比較することを特徴とするRFRPとOT7T022との結合性またはシグナル伝達を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法、
- c) 標識したRFRPを、OT7T022をコードするDNAを含有する形質転換体を培養することによって細胞膜上に発現したOT7T022に接触させた場合と、標識したRFRPおよび試験化合物をOT7T022をコードするDNAを含有する形質転換体を培養することによって細胞膜上に発現したOT7T022に接触させた場合における、標識したRFRPのOT7T022に対する結合量を測定し、比較することを特徴とするRFRPとOT7T022との結合性またはシグナル伝達を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法、
- d) RFRPを活性化する化合物またはその塩（例えば、RFRPなど）をOT7T022を含有する細胞に接触させた場合と、RFRPを活性化する化合物またはその塩および試験化合物をOT7T022を含有する細胞に接触させた場合における、OT7T022を介した細胞刺激活性を測定し、

比較することを特徴とするR F R PとO T 7 T 0 2 2との結合性またはシグナル伝達を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法、および

e) R F R Pを活性化する化合物またはその塩（例えば、R F R Pなど）
をO T 7 T 0 2 2をコードするDNAを含有する形質転換体を培養すること
によって細胞膜上に発現したO T 7 T 0 2 2に接触させた場合と、R F R P
を活性化する化合物またはその塩および試験化合物をO T 7 T 0 2 2をコー
ドするDNAを含有する形質転換体を培養することによって細胞膜上に発現
したO T 7 T 0 2 2に接触させた場合における、レセプターを介する細胞刺
激活性を測定し、比較することを特徴とするR F R PとO T 7 T 0 2 2との
結合性またはシグナル伝達を変化させる化合物またはその塩のスクリーニン
グ方法を提供する。

本発明のスクリーニング方法では、R F R Pの代わりに、R F R PとO T
7 T 0 2 2との結合性を変化させる化合物またはその塩を用いることもでき
る。このR F R PとO T 7 T 0 2 2との結合性を変化させる化合物またはそ
の塩は、R F R Pを用いて本発明のスクリーニング方法を実施することによっ
て得ることができる。

本発明のスクリーニング方法の具体的な説明を以下にする。

まず、本発明のスクリーニング方法に用いるO T 7 T 0 2 2としては、O
T 7 T 0 2 2を含有する哺乳動物の臓器の細胞膜画分が好適である。しかし、
特にヒト由来の臓器は入手が極めて困難なことから、スクリーニングに用い
られるものとしては、組換え体を用いて大量発現させたヒト由来のO T 7 T
0 2 2などが適している。

O T 7 T 0 2 2を製造するには、W O 0 0 / 2 9 4 4 1号またはW O 0 1
/ 6 6 1 3 4号に記載の方法が用いられるが、O T 7 T 0 2 2をコードする
DNAを哺乳細胞や昆虫細胞で発現することにより行なうことが好ましい。
目的とする蛋白質部分をコードするDNA断片には相補DNAが用いられる
が、必ずしもこれに制約されるものではない。例えば、遺伝子断片や合成D
NAを用いてもよい。O T 7 T 0 2 2をコードするDNA断片を宿主動物細

胞に導入し、それらを効率よく発現させるためには、該DNA断片を昆虫を宿主とするバキュロウイルスに属する核多角体病ウイルス (nuclear polyhedrosis virus; NPV) のポリヘドリンプロモーター、SV40由来のプロモーター、レトロウイルスのプロモーター、メタロチオネインプロモーター、ヒトヒートショックプロモーター、サイトメガロウイルスプロモーター、SR α プロモーターなどの下流に組み込むのが好ましい。発現したレセプターの量と質の検査はそれ自体公知の方法で行うことができる。例えば、文献 [Nambi, P. ら、ザ・ジャーナル・オブ・バイオロジカル・ケミストリー (J. Biol. Chem.) , 267巻, 19555~19559頁, 1992年] に記載の方法に従つて行なうことができる。

したがって、本発明のスクリーニング方法において、OT7T022を含有するものとしては、それ自体公知の方法に従つて精製したOT7T022であってもよいし、OT7T022を含有する細胞を用いてもよく、またOT7T022を含有する細胞の膜画分を用いてもよい。

本発明のスクリーニング方法において、OT7T022を含有する細胞を用いる場合、該細胞をグルタルアルデヒド、ホルマリンなどで固定化してもよい。固定化方法はそれ自体公知の方法に従つて行なうことができる。

OT7T022を含有する細胞としては、OT7T022を発現した宿主細胞をいうが、該宿主細胞としては、大腸菌、枯草菌、酵母、昆虫細胞、動物細胞などが好ましい。

細胞膜画分としては、細胞を破碎した後、それ自体公知の方法で得られる細胞膜が多く含まれる画分のことをいう。細胞の破碎方法としては、Potter-Elvehjem型ホモジナイザーで細胞を押し潰す方法、ワーリングブレンダーやポリトロン (Kinematica社製) のによる破碎、超音波による破碎、フレンチプレスなどで加圧しながら細胞を細いノズルから噴出させることによる破碎などが挙げられる。細胞膜の分画には、分画遠心分離法や密度勾配遠心分離法などの遠心力による分画法が主として用いられる。例えば、細胞破碎液を低速 (500~3000 rpm) で短時間 (通常、約1~10分) 遠心し、

上清をさらに高速（15000～30000 rpm）で通常30分～2時間遠心し、得られる沈澱を膜画分とする。該膜画分中には、発現したOT7T022と細胞由来のリン脂質や膜蛋白質などの膜成分が多く含まれる。

OT7T022を含有する細胞や膜画分中のOT7T022の量は、1細胞当たり $10^3 \sim 10^8$ 分子であるのが好ましく、 $10^5 \sim 10^7$ 分子であるのが好適である。なお、発現量が多いほど膜画分当たりのOT7T022結合活性（比活性）が高くなり、高感度なスクリーニング系の構築が可能になるばかりでなく、同一ロットで大量の試料を測定できるようになる。

RFRPとOT7T022との結合性またはシグナル伝達を変化させる化合物またはその塩をスクリーニングする上記のa)～c)を実施するためには、例えば、適当なOT7T022画分と、標識したRFRPが必要である。

OT7T022画分としては、天然型のOT7T022画分か、またはそれと同等の活性を有する組換え型OT7T022画分などが望ましい。ここで、同等の活性とは、同等のリガンド結合活性、シグナル情報伝達作用などを示す。

標識したRFRPとしては、標識したRFRP、標識したRFRPアナログ化合物などが用いられる。例えば [3 H]、 [125 I]、 [14 C]、 [35 S] などで標識されたRFRPなどが用いられる。

具体的には、RFRPとOT7T022との結合性またはシグナル伝達を変化させる化合物のスクリーニングを行なうには、まずOT7T022を含有する細胞または細胞の膜画分を、スクリーニングに適したバッファーに懸濁することによりOT7T022標品を調製する。バッファーには、pH 4～10（望ましくはpH 6～8）のリン酸バッファー、トリス－塩酸バッファーなどのRFRPとOT7T022との結合を阻害しないバッファーであればいずれでもよい。また、非特異的結合を低減させる目的で、CHAPS、Tween-80TM（花王－アトラス社）、ジギトニン、デオキシコレートなどの界面活性剤をバッファーに加えることもできる。さらに、プロテアーゼによるOT7T022やRFRPの分解を抑える目的でPMSF、ロイ

ペプチド、E-64(ペプチド研究所製)、ペプスタチンなどのプロテアーゼ阻害剤を添加することもできる。0.01~10mMの該レセプター溶液に、一定量(5000~500000cpm)の標識したRFRPを添加し、同時に 10^{-4} M~ 10^{-10} Mの試験化合物を共存させる。非特異的結合量
5 (NSB) を知るために大過剰の未標識のRFRPを加えた反応チューブも用意する。反応は約0~50°C、望ましくは約4~37°Cで、約20分~24時間、望ましくは約30分~3時間行う。反応後、ガラス繊維濾紙等で濾過し、適量の同バッファーで洗浄した後、ガラス繊維濾紙に残存する放射活性を液体シンチレーションカウンターまたはγカウンターで計測する。拮抗する物質がない場合のカウント(B_0)から非特異的結合量(NSB)を引いたカウント($B_0 - NSB$)を100%とした時、特異的結合量($B - NSB$)が、例えば、50%以下になる試験化合物を拮抗阻害能力のある候補物質として選択することができる。

RFRPとOT7T022との結合性またはシグナル伝達を変化させる化合物またはその塩をスクリーニングする上記のd)~e)の方法を実施するためには、例えば、OT7T022を介する細胞刺激活性を公知の方法または市販の測定用キットを用いて測定することができる。

具体的には、まず、OT7T022を含有する細胞をマルチウェルプレート等に培養する。スクリーニングを行なうにあたっては前もって新鮮な培地あるいは細胞に毒性を示さない適当なバッファーに交換し、試験化合物などを添加して一定時間インキュベートした後、細胞を抽出あるいは上清液を回収して、生成した産物をそれぞれの方法に従って定量する。細胞刺激活性の指標とする物質(例えば、アラキドン酸など)の生成が、細胞が含有する分解酵素によって検定困難な場合は、該分解酵素に対する阻害剤を添加してアッセイを行なってもよい。また、cAMP産生抑制などの活性については、フォルスコリンなどで細胞の基礎的産生量を増大させておいた細胞に対する産生抑制作用として検出することができる。

細胞刺激活性を測定してスクリーニングを行なうには、適当なOT7T0

22を発現した細胞が必要である。OT7T022を発現した細胞としては、天然型のOT7T022を有する細胞株、上記の組換え型OT7T022を発現した細胞株などが望ましい。

試験化合物としては、前記と同様のものが用いられる。

5 また、試験化合物としては、OT7T022の活性部位の原子座標およびリガンド結合ポケットの位置に基づいて、リガンド結合ポケットに結合するように設計された化合物が好ましく用いられる。OT7T022の活性部位の原子座標およびリガンド結合ポケットの位置の測定は、公知の方法あるいはそれに準じる方法を用いて行うことができる。

10 RFRPとOT7T022との結合性またはシグナル伝達を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング用キットは、RFRP、OT7T022を含有する細胞またはその細胞膜画分を含有するものなどである。

本発明のスクリーニング用キットの例としては、次のものが挙げられる。

1. スクリーニング用試薬

15 a) 測定用緩衝液および洗浄用緩衝液

Hanks' Balanced Salt Solution (ギブコ社製) に、0.05%のウシ血清アルブミン (シグマ社製) を加えたもの。

孔径0.45μmのフィルターで濾過滅菌し、4°Cで保存するか、あるいは用時調製しても良い。

20 b) OT7T022標品

OT7T022を発現させたCHO細胞を、12穴プレートに 5×10^5 個/穴で継代し、37°C、5%CO₂、95%airで2日間培養したもの。

c) 標識RFRP

市販の[³H]、[¹²⁵I]、[¹⁴C]、[³⁵S]などで標識したRF
25 RP

水溶液の状態のものを4°Cあるいは-20°Cにて保存し、用時に測定用緩衝液にて1μMに希釀する。

d) RFRP標準液

R F R P を 0.1 % ウシ血清アルブミン（シグマ社製）を含む P B S で 1 m M となるように溶解し、-20℃で保存する。

2. 測定法

- 5 a) 12穴組織培養用プレートにて培養した O T 7 T 0 2 2 発現 C H O 細胞を、測定用緩衝液 1 m l で 2 回洗浄した後、490 μ l の測定用緩衝液を各穴に加える。
- b) $10^{-3} \sim 10^{-1}$ M の試験化合物溶液を 5 μ l 加えた後、標識 R F R P を 5 μ l 加え、室温にて 1 時間反応させる。非特異的結合量を知るために試験化合物の代わりに 10^{-3} M の R F R P を 5 μ l 加えておく。
- 10 c) 反応液を除去し、1 m l の洗浄用緩衝液で 3 回洗浄する。細胞に結合した標識 R F R P を 0.2 N NaOH - 1% SDS で溶解し、4 m l の液体シンチレーター A (和光純薬製) と混合する。
- d) 液体シンチレーションカウンター（ベックマン社製）を用いて放射活性を測定し、Percent Maximum Binding (PMB) を次の式で求める。

$$15 \quad PMB = [(B - NSB) / (B_0 - NSB)] \times 100$$

PMB : Percent Maximum Binding

B : 検体を加えた時の値

NSB : Non-specific Binding (非特異的結合量)

B_0 : 最大結合量

20 本発明のスクリーニング方法またはスクリーニング用キットを用いて得られる化合物としては、ペプチド、蛋白質、非ペプチド性化合物、合成化合物、発酵生産物、細胞抽出液、植物抽出液、動物組織抽出液、血漿などが挙げられ、これら化合物は新規な化合物であってもよいし、公知の化合物であってもよい。

25 上記スクリーニング方法で得られる化合物の塩としては、前記した R F R P の塩と同様の塩が用いられる。

本発明のスクリーニング方法またはスクリーニング用キットを用いて得られる化合物またはその塩は、R F R P と O T 7 T 0 2 2 との結合性またはシ

グナル伝達を変化させる作用を有する化合物またはその塩であり、具体的には、(イ) OT7T022を介して細胞刺激活性を有する化合物またはその塩(いわゆる、OT7T022アゴニスト)、(ロ) 該細胞刺激活性を有しない化合物またはその塩(いわゆる、OT7T022アンタゴニスト)、(ハ) 5 RFRPとOT7T022との結合力を増強する化合物またはその塩、または(ニ) RFRPとOT7T022との結合力を減少させる化合物またはその塩である。

OT7T022アゴニストであるか、アンタゴニストであるかの具体的な評価方法は以下の(i)および(ii)に従えばよい。

10 (i) 例えば、前記a)～c)のスクリーニング方法で示されるバインディング・アッセイを行い、RFRPとOT7T022との結合性を変化させる(特に、結合を阻害する)化合物またはその塩を得た後、該化合物またはその塩が上記したOT7T022を介する細胞刺激活性を有しているか否かを測定する。細胞刺激活性を有する化合物またはその塩はOT7T022アゴニストであり、該活性を有しない化合物またはその塩はOT7T022アンタゴニストである。

(ii) (a) 試験化合物をOT7T022を含有する細胞に接触させ、上記OT7T022を介した細胞刺激活性を測定する。細胞刺激活性を有する化合物またはその塩はOT7T022アゴニストである。

20 (b) OT7T022を活性化する化合物(例えば、RFRPなど)をOT7T022を含有する細胞に接触させた場合と、OT7T022を活性化する化合物および試験化合物をOT7T022を含有する細胞に接触させた場合における、OT7T022を介した細胞刺激活性を測定し、比較する。OT7T022を活性化する化合物による細胞刺激活性を減少させ得る化合物またはその塩はOT7T022アンタゴニストである。

OT7T022アゴニストは、RFRPが有する生理活性と同様の作用を有しており安全で低毒性な医薬として有用である。

OT7T022アンタゴニストは、RFRPが有する生理活性を抑制する

ことができる所以、R F R P の生理活性を抑制するための安全で低毒性な医薬として有用である。

R F R P と O T 7 T 0 2 2 との結合力を増強する化合物またはその塩は、R F R P が有する生理活性を増強する所以ができるので、安全で低毒性な医薬として有用である。
5

R F R P と O T 7 T 0 2 2 との結合力を減少させる化合物またはその塩は、R F R P が有する生理活性を減少させることができるので、R F R P の生理活性を抑制するための安全で低毒性な医薬として有用である。

具体的には、本発明のスクリーニング方法またはスクリーニング用キットを用いて得られる O T 7 T 0 2 2 アゴニストおよび R F R P と O T 7 T 0 2 2 との結合力を増強する化合物またはその塩は、例えば、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加、筋力低下など、特に筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下に対する予防・治療・改善剤として有用である。
10
15

一方、本発明のスクリーニング方法またはスクリーニング用キットを用いて得られる O T 7 T 0 2 2 アンタゴニストおよび R F R P と O T 7 T 0 2 2 との結合力を減少させる化合物またはその塩は、例えば、筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数增加、血小板数增加または自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少に対する予防・治療・改善剤、鎮痛剤、モルヒネの鎮痛作用促進剤、モルヒネ耐性回避剤、モルヒネ依存性回避剤などとして有用である。
20
25

本発明のスクリーニング方法またはスクリーニング用キットを用いて得られる化合物またはその塩を上記の医薬組成物として使用する場合、常套手段に従って製剤化する所以ができる。具体的には、上記した R F R P を含有す

る予防・治療・改善剤と同様に製造することができる。

得られる製剤は安全で低毒性であるので、例えば、ヒトや哺乳動物（例えば、ラット、マウス、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ネコ、イヌ、サルなど）に対して投与することができる。

5 該化合物またはその塩の投与量は、投与対象、対象臓器、症状、投与方法などにより差異はあるが、経口投与の場合、一般的に例えば、痛覚障害患者（体重60kgとして）においては、一日につきOT7T022アゴニストを約0.1～100mg、好ましくは約1.0～50mg、より好ましくは約1.0～20mgである。非経口的に投与する場合は、その1回投与量は投
10 与対象、対象臓器、症状、投与方法などによっても異なるが、例えば、注射剤の形では通常例えば、痛覚障害患者（体重60kgとして）においては、一日につきOT7T022アゴニストを約0.01～30mg程度、好ましくは約0.1～20mg程度、より好ましくは約0.1～10mg程度を静脈注射により投与するのが好都合である。他の動物の場合も、体重60kg
15 当たりに換算した量を投与することができる。

(6) 細胞膜におけるOT7T022の量を変化させる化合物またはその塩を含有する医薬

OT7T022に対する抗体は、OT7T022を特異的に認識することができるので、細胞膜におけるOT7T022の量を変化させる化合物またはその塩のスクリーニングに用いることができる。
20

すなわち、本発明は、例えば、

(i) 非ヒト哺乳動物のa) 血液、b) 特定の臓器、c) 臓器から単離した組織もしくは細胞等を破壊した後、細胞膜画分を単離し、細胞膜画分に含まれるOT7T022を定量することによる、細胞膜におけるOT7T022の量を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法、
25 (ii) OT7T022を発現する形質転換体等を破壊した後、細胞膜画分を単離し、細胞膜画分に含まれるOT7T022を定量することによる、細胞膜におけるOT7T022の量を変化させる化合物またはその塩のスクリ

ーニング方法、

(iii) 非ヒト哺乳動物の a) 血液、 b) 特定の臓器、 c) 臓器から単離した組織もしくは細胞等を切片とした後、免疫染色法を用いることにより、細胞表層での該受容体蛋白質の染色度合いを定量化することにより、細胞膜上の該蛋白質を確認することによる、細胞膜における OT7T022 の量を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法を提供する。

(iv) OT7T022 を発現する形質転換体等を切片とした後、免疫染色法を用いることにより、細胞表層での該受容体蛋白質の染色度合いを定量化することにより、細胞膜上の該蛋白質を確認することによる、細胞膜における OT7T022 の量を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法を提供する。

細胞膜画分に含まれる OT7T022 の定量は具体的には以下のようにして行なう。

(i) 正常あるいは疾患モデル非ヒト哺乳動物（例えば、マウス、ラット、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ネコ、イヌ、サルなど、より具体的には免疫不全ラット、マウス、化ウサギなど）に対して、薬剤（例えば、免疫調節薬など）あるいは物理的ストレス（例えば、浸水ストレス、電気ショック、明暗、低温など）などを与え、一定時間経過した後に、血液、あるいは特定の臓器（例えば、脳、肝臓、腎臓など）、または臓器から単離した組織、あるいは細胞を得る。得られた臓器、組織または細胞等を、例えば、適当な緩衝液（例えば、トリス塩酸緩衝液、リン酸緩衝液、ヘペス緩衝液など）等に懸濁し、臓器、組織あるいは細胞を破壊し、界面活性剤（例えば、トリトン X-100TM、ツイーン 20TM など）などを用い、さらに遠心分離や濾過、カラム分画などの手法を用いて細胞膜画分を得る。

細胞膜画分としては、細胞を破碎した後、それ自体公知の方法で得られる細胞膜が多く含まれる画分のことをいう。細胞の破碎方法としては、Potter-Elvehjem 型ホモジナイザーで細胞を押し潰す方法、ワーリングブレンダー やポリトロン（Kinematica社製）による破碎、超音波による破碎、フレンチ

プレスなどで加圧しながら細胞を細いノズルから噴出させることによる破碎などが挙げられる。細胞膜の分画には、分画遠心分離法や密度勾配遠心分離法などの遠心力による分画法が主として用いられる。例えば、細胞破碎液を低速（500～3000 rpm）で短時間（通常、約1分～10分）遠心し、
5 上清をさらに高速（15000～30000 rpm）で通常30分～2時間遠心し、得られる沈殿を膜画分とする。該膜画分中には、発現したOT7T022と細胞由来のリン脂質や膜蛋白質などの膜成分が多く含まれる。

細胞膜画分に含まれるOT7T022は、例えば、本発明の抗体を用いた
10 サンドイッチ免疫測定法、ウエスタンプロット解析などにより定量することができる。

かかるサンドイッチ免疫測定法は上記の方法と同様にして行なうことができ、ウエスタンプロットは自体公知の手段により行なうことができる。

(ii) OT7T022を発現する形質転換体を上記の方法に従い作製し、細胞膜画分に含まれるOT7T022を定量することができる。

15 細胞膜におけるOT7T022の量を変化させる化合物またはその塩のスクリーニングは、

(i) 正常あるいは疾患モデル非ヒト哺乳動物に対して、薬剤あるいは物理的ストレスなどを与える一定時間前（30分前～24時間前、好ましくは30分前～12時間前、より好ましくは1時間前～6時間前）もしくは一定時間後（30分後～3日後、好ましくは1時間後～2日後、より好ましくは1時間後～24時間後）、または薬剤あるいは物理的ストレスと同時に試験化合物を投与し、投与後一定時間経過後（30分後～3日後、好ましくは1時間後～2日後、より好ましくは1時間後～24時間後）、細胞膜におけるOT7T022の量を定量することにより行なうことができ、
20

25 (ii) 形質転換体を常法に従い培養する際に試験化合物を培地中に混合させ、一定時間培養後（1日後～7日後、好ましくは1日後～3日後、より好ましくは2日後～3日後）、細胞膜におけるRFRPの量を定量することにより行なうことができる。

細胞膜画分に含まれるOT7T022の確認は具体的には以下のようにして行なう。

(iii) 正常あるいは疾患モデル非ヒト哺乳動物（例えば、マウス、ラット、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ネコ、イヌ、サルなど、より具体的には免疫不全モデルラット、マウス、ウサギなど）に対して、薬剤（例えば、免疫調節薬など）あるいは物理的ストレス（例えば、浸水ストレス、電気ショック、明暗、低温など）などを与え、一定時間経過した後に、血液、あるいは特定の臓器（例えば、脳、肝臓、腎臓など）、または臓器から単離した組織、あるいは細胞を得る。得られた臓器、組織または細胞等を、常法に従い組織切片とし、本発明の抗体を用いて免疫染色を行う。細胞表層での該受容体蛋白質の染色度合いを定量化することにより、細胞膜上の該蛋白質を確認することにより、定量的または定性的に、細胞膜におけるOT7T022の量を確認することができる。

(iv) OT7T022を発現する形質転換体等を用いて同様の手段をとることにより確認することもできる。

試験化合物としては、前記と同様のものが用いられる。

本発明のスクリーニング方法を用いて得られる化合物は、細胞膜におけるOT7T022の量を変化させる作用を有する化合物であり、具体的には、

(イ) 細胞膜におけるOT7T022の量を増加させることにより、OT7T022を介する細胞刺激活性を増強させる化合物、(ロ) 細胞膜におけるOT7T022の量を減少させることにより、該細胞刺激活性を減弱させる化合物である。

上記スクリーニング方法で得られる化合物の塩としては、前記したRFPの塩と同様の塩が用いられる。

細胞膜におけるOT7T022の量を増加させることにより、細胞刺激活性を増強させる化合物またはその塩は、例えば、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、

痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加、筋力低下など、特に筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下に対する安全で低毒性な予防・治療・改善剤として有用である。

細胞膜におけるOT7T022の量を減少させることにより、細胞刺激活性を減弱させる化合物またはその塩は、例えば、筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少に対する安全で低毒性な予防・治療・改善剤、鎮痛剤、モルヒネの鎮痛作用促進剤、モルヒネ耐性回避剤、モルヒネ依存性回避剤などとして有用である。

本発明のスクリーニング方法を用いて得られる化合物またはその塩を医薬組成物として使用する場合、常套手段に従って製剤化することができる。具体的には、上記したR F R Pを含有する予防・治療・改善剤と同様に製造することができる。

得られる製剤は安全で低毒性であるので、例えば、ヒトや哺乳動物（例えば、ラット、マウス、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ネコ、イヌ、サルなど）に対して投与することができる。

該化合物またはその塩の投与量は、投与対象、対象臓器、症状、投与方法などにより差異はあるが、経口投与の場合、一般的に例えば、痛覚障害患者（体重60kgとして）においては、細胞膜におけるOT7T022の量を増加させる化合物またはその塩を一日につき約0.1～100mg、好ましくは約1.0～50mg、より好ましくは約1.0～20mgである。非経口的に投与する場合は、その1回投与量は投与対象、対象臓器、症状、投与方法などによっても異なるが、例えば、注射剤の形では、通常例えば、痛覚障害患者（体重60kgとして）においては、細胞膜におけるOT7T022の量を増加させる化合物またはその塩を一日につき約0.01～30mg程度、好ましくは約0.1～20mg程度、より好ましくは約0.1～10m

g程度を静脈注射により投与するのが好都合である。他の動物の場合も、体重60kg当たりに換算した量を投与することができる。

(7) R F R PまたはOT7T022に対する抗体を含有してなる医薬

R F R PまたはOT7T022に対して抗体（特に、中和抗体）は、R F
5 R PまたはOT7T022が関与するシグナル伝達、例えば、OT7T02
2を介する細胞刺激活性を不活性化することができる。

したがって、R F R PまたはOT7T022に対する抗体は、例えば、筋
疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行
動量（特に、夜間自発行動量）の減少に対する予防・治療・改善剤、鎮痛剤、
10 モルヒネの鎮痛作用促進剤、モルヒネ耐性回避剤、モルヒネ依存性回避剤な
どとして用いることができる。

上記予防・治療・改善剤は、前記したR F R Pを含有する医薬と同様にして製造し、使用することができる。

(8) アンチセンスDNAまたはs i RNAを含有してなる医薬

15 R F R PをコードするDNAに対するアンチセンスDNAまたはOT7T
022をコードするDNAに対するアンチセンスDNA（以下、アンチセン
スDNAと略記する）または本発明のs i RNAは、例えば、筋疾患、副腎
機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量（特に、
夜間自発行動量）の減少に対する予防・治療・改善剤、鎮痛剤、モルヒネの
20 鎮痛作用促進剤、モルヒネ耐性回避剤、モルヒネ依存性回避剤などとして用
いることができる。

例えば、該アンチセンスDNAまたはs i RNAを用いる場合、該アンチ
センスDNAまたはs i RNAを単独あるいはレトロウイルスベクター、ア
デノウイルスベクター、アデノウイルスアソシエーテッドウイルスベクター
25 などの適当なベクターに挿入した後、常套手段に従って実施することができる。
該アンチセンスDNAまたはs i RNAは、そのまで、あるいは摂取
促進のために補助剤などの生理学的に認められる担体とともに製剤化し、遺
伝子銃やハイドロゲルカテーテルのようなカテーテルによって投与できる。

さらに、該アンチセンスDNAは、組織や細胞におけるR F R PまたはOT7T022をコードするDNAの存在やその発現状況を調べるために診断用オリゴヌクレオチドプローブとして使用することもできる。

(9) OT7T022ノックアウト動物

5 [OT7T022遺伝子発現不活性哺乳動物ES細胞]

OT7T022遺伝子が不活性化された哺乳動物ES細胞とは、哺乳動物ES細胞が有するOT7T022遺伝子に人为的に変異を加えることにより、遺伝子の発現能を抑制するか、もしくは該遺伝子がコードしているOT7T022の活性を実質的に喪失させることにより、遺伝子が実質的にOT7T022の発現能を有さない不活性化された（以下、本発明のノックアウト遺伝子と称することがある）哺乳動物のES細胞をいう。

OT7T022遺伝子としては、前記したOT7T022をコードするDNAが用いられるが、具体的には、マウスOT7T022遺伝子としては、配列番号：27で表わされるアミノ酸配列からなるマウスOT7T022の部分蛋白質をコードする、配列番号：32または配列番号：28で表わされる塩基配列からなる遺伝子（ゲノムDNA）などが用いられる。

ラットOT7T022遺伝子としては、配列番号：11で表わされるアミノ酸配列からなるOT7T022をコードする、配列番号：12で表わされる塩基配列を含有する遺伝子などが用いられる。

20 本明細書中、ES細胞の材料とする哺乳動物としては、例えば、ヒト、ウシ、ブタ、ヒツジ、ヤギ、ウサギ、イヌ、ネコ、モルモット、ハムスター、マウス、ラットなどが用いられる。

また、本明細書中、非ヒト動物としては、OT7T022遺伝子を有するヒト以外の動物ならば、いかなる動物でもよいが、非ヒト哺乳動物が好ましい。非ヒト哺乳動物としては、例えば、ウシ、ブタ、ヒツジ、ヤギ、ウサギ、イヌ、ネコ、モルモット、ハムスター、マウス、ラットなどが用いられる。非ヒト哺乳動物のなかでも、病態動物モデル系の作製の面から個体発生および生物サイクルが比較的短く、また繁殖が容易なゲッ歯動物、とりわけマウ

ス（例えば純系として、C57BL/6系統、DBA2系統など、交雑系として、B6C3F1系統、BDF1系統、B6D2F1系統、BALB/c系統、ICR系統など（なかでも好ましくは、純系として、C57BL/6系統など、交雑系として、BDF1系統またはICR系統など））またはラット（例えば、Wistar系統、SD系統など）などが特に好ましい。

OT7T022遺伝子に人為的に変異を加える方法としては、例えば、遺伝子工学的手法により該遺伝子配列の一部又は全部の削除、もしくは他遺伝子の挿入または置換があげられる。これらの変異により、例えば、コドンの読み取り枠をずらすか、プロモーターあるいはエキソンの機能を破壊することにより本発明のノックアウト遺伝子を作製することができる。

OT7T022遺伝子が不活性化された哺乳動物（好ましくは、非ヒト哺乳動物）ES細胞（以下、OT7T022遺伝子不活性化ES細胞またはノックアウトES細胞と略記する）の具体例としては、例えば、薬剤耐性遺伝子（例えば、ネオマイシン耐性遺伝子、ハイグロマイシン耐性遺伝子またはゼオシン耐性遺伝子など、好ましくは、ネオマイシン耐性遺伝子など）、あるいはレポーター遺伝子（例えば、lacZ（大腸菌β-ガラクトシダーゼ遺伝子）、cat（クロラムフェニコールアセチルトランスクレオチド遺伝子）、GUS（β-グルクロニダーゼ遺伝子）、ルシフェラーゼ遺伝子、エクオリン遺伝子、タウマリン遺伝子、GFP（Green Fluorescent Protein）遺伝子など、好ましくは、lacZなど）等を挿入することによりOT7T022遺伝子のエキソンの機能を破壊するか、あるいはエキソン間のインtron部分に遺伝子の転写を終結させるDNA配列（例えば、polyA付加シグナルなど）を挿入し、完全なmRNAを合成できなくすることによって、結果的に遺伝子を破壊するように構築したDNA配列を有するDNAベクター（以下、ターゲティングベクターと略記する）を作製する。レポーター遺伝子を挿入してエキソンの機能を破壊する場合、該レポーター遺伝子は、OT7T022プロモーターの制御下で発現するように挿入することが好ましい。

上記「薬剤耐性遺伝子」とは、抗生物質などの薬剤耐性に関与する遺伝子

を示し、導入される遺伝子が細胞において発現したか否かを選抜するマーカーとして利用される。

また、上記「レポーター遺伝子」とは、遺伝子発現の指標になる遺伝子群のことを示し、通常、発光反応や呈色反応を触媒する酵素の構造遺伝子が利用されることが多く、①遺伝的背景がないもの、②遺伝子発現を定量的に行える高感度の方法があるもの、③形質転換細胞への影響が少ないもの、④発現部位の局在性が示されるものなどが好ましく用いられる（植物細胞工学、第2巻、第721頁、1990）。また、上記の「薬剤耐性遺伝子」なども同じ目的で使用されるが、「レポーター遺伝子」は、単に導入される遺伝子が細胞において発現したかどうかだけではなく、どの組織でいつ発現したかを調べることができる、しかも定量的に発現量を正確に調べることができるものである。

さらに、ターゲティングベクターを、例えば、相同組換え法により該動物の染色体に導入し、得られたES細胞についてOT7T022遺伝子上あるいはその近傍のDNA配列をプローブとしたサザンハイブリダイゼーション解析あるいはターゲティングベクター上のDNA配列とターゲティングベクター作製に使用したOT7T022遺伝子以外の近傍領域のDNA配列をプライマーとしたPCR法により解析し、本発明のノックアウトES細胞を選別することにより得ることができる。

上記のターゲティングベクターとしては、例えば、大腸菌由来のプラスミド（例、pBR322, pBR325, pUC12, pUC13など）、枯草菌由来のプラスミド（例、pUB110, pTB5, pC194など）、酵母由来のプラスミド（例、pSH19, pSH15など）、λファージなどのバクテリオファージ、モロニー白血病ウイルスなどのレトロウイルス、ワクシニアウイルスまたはアデノウイルスベクター、パキュロウイルス、ウシ乳頭腫ウイルス、ヘルペスウイルス群からのウイルス、またはエプスタイン・バー・ウイルスなどの動物ウイルスなどが用いられる。

また、相同組換え法等によりOT7T022遺伝子を不活性化させる元のES細胞としては、例えば、前述のような既に樹立されたものを用いてもよ

く、また公知のEvansとKaufmanの方法に準じて新しく樹立したものでもよい。例えば、マウスのES細胞の場合、現在、一般的には129系統のES細胞が使用されているが、免疫学的背景がはっきりしていないので、これに代わる純系で免疫学的に遺伝的背景が明らかなES細胞を取得するなどの目的で、
5 例えば、C57BL/6系統マウスやDBA/2系統との交雑種BDF1系統マウス（C57BL/6系統とDBA/2系統とのF1）を用いて樹立したものなども良好に用いられる。BDF1系統マウスは、採卵数が多く、かつ、卵が操作上にであるという利点に加えて、C57BL/6系統マウスを遺伝的背景に持つので、これを用いて得られたES細胞は病態モデルマウスを作
10 出したとき、C57BL/6系統マウスと戻し交配することでその遺伝的背景をC57BL/6系統に戻すことが可能である点で有利に用い得る。

また、ES細胞を樹立する場合、一般には受精後3.5日目の胚盤胞を使用するが、これ以外に8細胞期胚（受精後2.5日目頃の8細胞期胚が好ましい）を採卵し胚盤胞まで培養して用いることにより効率よく多数の初期胚を取得
15 することができる。

また第二次セレクションは、G-バンディング法などを用いた核型分析等により行うことができる。得られるES細胞の染色体数は正常数の100%が望ましいが、樹立の際の物理的操作等の関係上困難な場合は、ES細胞の遺伝子をノックアウトした後、正常細胞（例えばマウスでは染色体数が2n=40である細胞）に再びクローニングすることが望ましい。
20

このようにして得られたES細胞株は、通常その増殖性は大変良いが、個体発生できる再生能を失いやすいので、注意深く継代培養が必要である。例えば、STO繊維芽細胞のような適当なフィーダー細胞上でLIF（1～10000U/ml）存在下に炭酸ガス培養器内（好ましくは、5%炭酸ガス、95%空気または5%酸素、5%炭酸ガス、90%空気）で約37℃で培養するなどの方法で培養し、継代時には、例えば、トリプシン/EDTA溶液（通常0.001～0.5%トリプシン/0.1～5mM EDTA、好ましくは約0.1%トリプシン/1mM EDTA）処理により単細胞化し、
25

新たに用意したフィーダー細胞上に播種する方法などがとられる。このような継代は、通常1～3日毎に行なうが、この際に細胞の観察を行い、形態的に異常な細胞が見受けられた場合は、その培養細胞は放棄することが望まれる。

5 ES細胞は、適当な条件により、高密度に至るまで単層培養するか、または細胞集塊を形成するまで浮遊培養することにより、頭頂筋、内臓筋、心筋などの種々のタイプの細胞に分化させることが可能であり [M. J. Evans及び
M. H. Kaufman, ネイチャー (Nature) 第292巻、154頁、1981年 ; G. R. Martin
プロシーディングス・オブ・ナショナル・アカデミー・オブ・サイエンス・
ユーエスエー (Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.) 第78巻、7634頁、1981年 ;
10 T. C. Doetschman ら、ジャーナル・オブ・エンブリオロジー・アンド・エクスペリメンタル・モルフォロジー、第87巻、27頁、1985年]、本発明のES
細胞を分化させて得られるOT7T022遺伝子発現不全細胞は、in vitro
におけるOT7T022の細胞生物学的検討において有用である。

15 また、ES細胞を保存する場合には、適当な凍結用培地（例えば、10%D
MSO、10%牛胎児血清を含むダルベッコ変法イーグル培地(DMEM)など）を用いて、約-80℃以下で凍結保存する。

本発明のOT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物（以下、遺伝子発現不全非ヒト動物と称す場合がある）とは、例えば、前記のOT7T022遺伝
20 子が不活性化された哺乳動物ES細胞由来の細胞を用いて遺伝子工学的に作
出されたものであり、例えば、生殖細胞および体細胞に胚形成初期に不活性
化OT7T022遺伝子配列を導入された非ヒト動物である。

該非ヒト動物としては、前記と同様のものが用いられる。

OT7T022遺伝子をノックアウトさせるには、前記のターゲティング
25 ベクターを非ヒト動物ES細胞または非ヒト動物卵細胞に公知の方法（例え
ば、エレクトロポレーション法、マイクロインジェクション法、リン酸カル
シウム法、リポフェクション法、凝集法、パーティクルガン法、DEAE-
デキストラン法など）によって導入し（好ましい導入法としては、ES細胞

に導入する場合にはエレクトロポレーション法、卵細胞に導入する場合にはマイクロインジェクション法などがあげられる)、ターゲティングベクターの不活性化されたOT7T022遺伝子配列を相同組換えにより、非ヒト動物ES細胞または非ヒト動物卵細胞の染色体上のOT7T022遺伝子に入れ換えることにより行うことができる。

OT7T022遺伝子がノックアウトされた細胞は、OT7T022遺伝子上またはその近傍のDNA配列をプローブとしたサザンハイブリダイゼーション解析またはターゲティングベクター上のDNA配列と、ターゲティングベクターに使用したマウス由来のOT7T022遺伝子以外の近傍領域のDNA配列とをプライマーとしたPCR法による解析で判定することができる。

非ヒト動物ES細胞を用いた場合は、相同組換えにより、OT7T022遺伝子が不活性化された細胞株をクローニングし、その細胞を胚形成の初期の適当な時期、例えば、8細胞期の非ヒト動物胚または胚盤胞に注入し(注入法)、またはOT7T022遺伝子が不活性化されたES細胞塊を2個の8細胞期胚ではさみ込む(集合キメラ法)ことにより作製したキメラ胚を偽妊娠させた該非ヒト動物の子宫に移植する。

作出された動物は正常なOT7T022遺伝子座をもつ細胞と人為的に変異したOT7T022遺伝子座をもつ細胞との両者から構成されるキメラ動物である。

該キメラ動物の生殖細胞の一部が変異したOT7T022遺伝子座をもつ場合、このようなキメラ個体と正常個体を交配することにより得られた個体群より、全ての組織が人為的に変異を加えたOT7T022遺伝子座をもつ細胞で構成された個体を、例えば、コートカラーの判定等により選別することにより得られる。このようにして得られた個体は、通常、OT7T022ヘテロ発現不全個体であり、OT7T022ヘテロ発現不全個体同志を交配し、それらの産仔からOT7T022ホモ発現不全個体を得ることができる。

卵細胞を使用する場合は、例えば、卵細胞核内にマイクロインジェクショ

ン法で遺伝子溶液を注入することによりターゲティングベクターを染色体内に導入したトランスジェニック非ヒト動物を得ることができ、これらのトランスジェニック非ヒト動物を比較することにより、相同組換えによりOT7T022遺伝子座に変異のあるものを選択することにより得られる。

5 OT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物は、該動物のmRNA量を公知の方法を用いて測定して間接的にその発現量を比較することにより、正常動物と区別することが可能である。

このようにしてOT7T022遺伝子がノックアウトされている個体は、交配により得られた動物個体も該遺伝子がノックアウトされていることを確10 認して通常の飼育環境で飼育継代を行なうことができる。

さらに、生殖系列の取得および保持についても常法に従って行なうことができる。即ち、該不活性遺伝子配列を保有する雌雄の動物を交配することにより、該不活性遺伝子配列を相同染色体の両方に持つホモザイゴート動物を取得することができる。得られたホモザイゴート動物は、母親動物に対して、正常個体1、ホモザイゴート複数になるような状態で飼育することにより効率的に得ることができる。ヘテロザイゴート動物の雌雄を交配することにより、該不活性遺伝子配列を有するホモザイゴートおよびヘテロザイゴート動物を繁殖継代することができる。このようにして得られた該不活性遺伝子配列を有する動物の子孫も本発明のOT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物20 に含まれる。

本発明のOT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物（特に、OT7T022ホモ欠損非ヒト動物、好ましくはOT7T022ホモ欠損マウス）は、次のような性質を有している。

- (1) 野生型動物に比べて、成熟齢以降に胸腺の重量が増加している。
- 25 (2) 野生型動物に比べて、後退歩行を主な特徴とする歩行異常さらに、振戦または痙攣などを示す場合がある。
- (3) 野生型動物に比べて、侵害刺激（例、熱侵害刺激）に対して反応性的低下が見られる。

- (4) 野生型動物に比べて、攻撃的行動が多い。
- (5) 野生型動物に比べて、腎臓絶対重量または胸腺絶対重量の低下がみられる。
- (6) 野生型動物に比べて、白血球数または血小板数の減少がみられる。
- 5 (7) 野生型動物に比べて、筋力が低下している。
- このようにOT7T022遺伝子が不活性化された哺乳動物ES細胞は、OT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物を作出する上で、非常に有用である。また、OT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物、該動物に対する薬剤誘発あるいはストレス負荷によって生じる病態モデル動物、OT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物と他の病態モデル動物との交配によって生じるより良い病態モデル動物、OT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物と他の病態モデル動物との交配によって生じる病態モデル動物に対する薬剤誘発あるいはストレス負荷によって生じる病態モデル動物およびOT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物と他の病態モデル動物を用いた骨髄移植動物、もしくはそれらの組織またはそれらに由来する細胞は、OT7T022の欠損に起因する疾病、例えば、OT7T022により誘導され得る種々の生物活性の欠失に基づく、OT7T022の生物活性の不活性化に起因する疾病（例えば、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加、筋力低下など、特に筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下など）のより良いモデルとなり得るので、20これらの疾病的原因究明及び治療法の検討に有用である。ここで、他の病態モデル動物としては、例えば、血液細胞側のみの遺伝子発現の欠損あるいは上昇に限局させた骨髄移植を用いたモデルマウスも挙げられる [Linton, M. F., et al., Science 267: 1034-1037 (1995)]。骨髄移植マウスは遺伝子
- 25

機能の変化が限局されることで、より適した病態モデル動物となる可能性を秘めている。例えば、上記されたOT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物から得られた病態モデル動物をドナー動物として、その骨髄を採取し、あらかじめ放射線照射で骨髄を破壊した他のレシピエント動物に移植したマウス、あるいは、他の病態モデル動物をドナー動物として、その骨髄を採取し、あらかじめ放射線照射で骨髄を破壊したOT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物から得られた病態モデル動物をレシピエント動物として移植した骨髄移植マウスなども含まれる。

このように、本発明のOT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物、該動物に対する薬剤誘発あるいはストレス負荷によって生じる病態モデル動物、OT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物と他の病態モデル動物との交配によって生じる病態モデル動物、OT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物と他の病態モデル動物との交配によって生じる病態モデル動物に対する薬剤誘発あるいはストレス負荷によって生じる病態モデル動物、OT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物から得られた病態モデル動物と他の病態モデル動物を用いて骨髄移植して得られた病態モデル動物、もしくはそれらの組織またはそれらに由来する細胞を、該疾病的予防・治療・改善薬のスクリーニングに用いることができる。ここで、上記組織やそれに由来する細胞の例としては、肝臓や腎臓などのホモジネートを用いて特定の活性を測定する、あるいは、腹腔マクロファージを用いて特定産物の活性や産生量を測定することでスクリーニングに用いることができる。

[本発明のスクリーニング方法A]

本発明は、本発明のOT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物もしくはその組織またはそれらに由来する細胞を用いることを特徴とする、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加または筋力低下、特に痛覚障害、

筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加または筋力低下の予防・治療・改善薬のスクリーニング方法を提供する。

本発明のスクリーニング方法において用いられるOT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物、該動物の薬剤誘発あるいはストレス負荷によって生じる病態モデル動物、OT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物と他の病態モデル動物との交配によって生じる病態モデル動物、OT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物と他の病態モデル動物との交配によって生じる病態モデル動物に対する薬剤誘発あるいはストレス負荷によって生じる病態モデル動物、OT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物から得られた病態モデル動物と他の病態モデル動物を用いて骨髄移植して得られた病態モデル動物、もしくはそれらの組織またはそれらに由来する細胞としては、前記と同様のものが挙げられる。

試験化合物としては、前記と同様のものが用いられる。

具体的には、本発明のOT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物、該動物の薬剤誘発あるいはストレス負荷によって生じる病態モデル動物、OT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物と他の病態モデル動物との交配によって生じる病態モデル動物、OT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物と他の病態モデル動物との交配によって生じる病態モデル動物に対する薬剤誘発あるいはストレス負荷によって生じる病態モデル動物およびOT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物から得られた病態モデル動物と他の病態モデル動物を用いて骨髄移植して得られた病態モデル動物（以下、OT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物等と称する場合がある）、もしくはそれらの組織またはそれらに由来する細胞を、試験化合物で処理し、無処理の対照動物と比較し、該動物の各器官、組織、細胞、疾病の症状等の変化、特に痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血

小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加、筋力低下など、特に筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下の改善効果を指標として試験化合物の予防・治療・改善効果を試験することができる。

試験動物（OT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物等）を試験化合物で処理する方法としては、例えば、経口投与、静脈注射などが用いられ、試験動物の症状、試験化合物の性質などにあわせて適宜選択することができる。また、試験化合物の投与量は、投与方法、試験化合物の性質などにあわせて適宜選択することができる。

例えば、肥満症の予防・治療・改善薬をスクリーニングする場合、本発明のOT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物等にコレステロール負荷処置を行い、コレステロール負荷処置前または処置後に試験化合物を投与し、該動物の血中コレステロール値および体重変化などを経時的に測定することによりスクリーニングすることができる。また、本発明のOT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物等にSTZあるいはアロキサンなどの薬剤投与を行い、糖負荷処置前または処置後に試験化合物を投与し、該動物の血糖値および体重変化などを経時的に測定することによりスクリーニングすることができる。

例えば、該スクリーニング方法において、試験動物に試験化合物を投与した場合、該試験動物の体重が約10%以上、好ましくは約30%以上、より好ましくは約50%以上減少した場合、該試験化合物を肥満症に対して治療・予防効果を有する物質として選択することができる。

また、痛覚障害の予防・治療・改善薬をスクリーニングする場合、本発明のOT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物等に試験化合物を投与し、該動物の痛み防御行動（例、なめる行動、あばれる行動、引っかき行動など）などを経時的に測定することによりスクリーニングすることができる。さらには、本発明のOT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物等にモルヒネなどの鎮痛薬の投与を行った後、試験化合物を投与し、該動物の痛み防御行動（例、

なめる行動、あばれる行動、引っかき行動など)などを経時的に測定することによりスクリーニングすることができる。

例えば、該スクリーニング方法において、試験動物に試験化合物を投与した場合、該試験動物の痛み防御行動が約10%以上、好ましくは約30%以上、より好ましくは約50%以上上昇した場合、該試験化合物を痛覚障害に對して治療・予防効果を有する物質として選択することができる。

本発明のスクリーニング方法を用いて得られる予防・治療・改善薬は、上記した試験化合物から選ばれた化合物またはその塩を含有するものであり、OT7T022欠損によって引き起こされる疾患の予防・治療・改善効果を有するので、OT7T022の欠損によって引き起こされる疾病に対する安全で低毒性な治療・予防薬などの医薬として有用である。また、該化合物から誘導される化合物も同様に用いることができる。

該スクリーニング方法で得られた化合物の塩としては、例えば、無機塩基との塩、有機塩基との塩、無機酸との塩、有機酸との塩、塩基性または酸性アミノ酸との塩などの薬学的に許容し得る塩などがあげられる。

無機塩基との塩の好適な例としては、例えばナトリウム塩、カリウム塩などのアルカリ金属塩、カルシウム塩、マグネシウム塩などのアルカリ土類金属塩、並びにアルミニウム塩、アンモニウム塩などがあげられる。

有機塩基との塩の好適な例としては、例えばトリメチルアミン、トリエチルアミン、ピリジン、ピコリン、2, 6-二エチジン、エタノールアミン、ジエタノールアミン、トリエタノールアミン、シクロヘキシルアミン、ジシクロヘキシルアミン、N, N'-ジベンジルエチレンジアミンなどとの塩があげられる。

無機酸との塩の好適な例としては、例えば塩酸、臭化水素酸、硫酸、リン酸などとの塩があげられる。

有機酸との塩の好適な例としては、例えばギ酸、酢酸、プロピオン酸、フマル酸、シュウ酸、酒石酸、マレイン酸、クエン酸、コハク酸、リンゴ酸、メタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、安息香酸などとの塩があげられる。

塩基性アミノ酸との塩の好適な例としては、例えばアルギニン、リジン、オルチニンなどとの塩があげられ、酸性アミノ酸との好適な例としては、例えばアスパラギン酸、グルタミン酸などとの塩があげられる。

本発明のスクリーニング方法を用いて得られる化合物またはその塩を上述
5 の治療・予防薬として使用する場合、常套手段に従って実施することができ、
例えば、必要に応じて糖衣を施した錠剤、カプセル剤、エリキシル剤、マイ
クロカプセル剤などとして経口的に、あるいは水もしくはそれ以外の薬学的
に許容し得る液との無菌性溶液、または懸濁液剤などの注射剤の形で非経口
的に使用できる。例えば、該化合物またはその塩を薬学的に認められる担体、
10 香味剤、賦形剤、ベヒクル、防腐剤、安定剤、結合剤などとともに一般に認
められた製薬実施に要求される単位用量形態で混和することによって製造す
ることができる。これら製剤における有効成分量は指示された範囲の適當な
容量が得られるようにするものである。

錠剤、カプセル剤などに混和することができる添加剤としては、例えば、
15 ゼラチン、コーンスターク、トラガントゴム、アラビアゴムのような結合剤、
結晶性セルロースのような賦形剤、コーンスターク、ゼラチン、アルギン酸
などのような膨化剤、ステアリン酸マグネシウムのような潤滑剤、ショ糖、
乳糖またはサッカリンのような甘味剤、ペパーミント、アカモノ油またはチ
ェリーのような香味剤などが用いられる。調剤単位形態がカプセルである場
20 合には、前記タイプの材料にさらに油脂のような液状担体を含有するこ
ができる。注射のための無菌組成物は注射用水のようなベヒクル中の活性物質、
胡麻油、椰子油などのような天然産出植物油などを溶解または懸濁させるな
どの通常の製剤実施に従って処方することができる。

注射用の水溶液としては、例えば、生理食塩水、ブドウ糖やその他の補助
25 薬を含む等張液（例えば、D-ソルビトール、D-マンニトール、塩化ナトリウムなど）などが挙げられ、適当な溶解補助剤、例えば、アルコール（例
えば、エタノールなど）、ポリアルコール（例えば、プロピレングリコール、
ポリエチレングリコールなど）、非イオン性界面活性剤（例えば、ポリソル

ベート 80™、HCO-50など) などと併用してもよい。油性液としては、
例えば、ゴマ油、大豆油などが挙げられ、溶解補助剤として安息香酸ベンジ
ル、ベンジルアルコールなどと併用してもよい。また、緩衝剤(例えば、リ
ン酸塩緩衝液、酢酸ナトリウム緩衝液など)、無痛化剤(例えば、塩化ベン
5 ザルコニウム、塩酸プロカインなど)、安定剤(例えば、ヒト血清アルブミ
ン、ポリエチレングリコールなど)、保存剤(例えば、ベンジルアルコール、
フェノールなど)、酸化防止剤などと配合してもよい。調製された注射液は
通常、適当なアンプルに充填される。

このようにして得られる製剤は安全で低毒性であるので、例えば、ヒトま
10 たは温血動物(例えば、マウス、ラット、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ウ
マ、トリ、ネコ、イヌ、サル、チンパンジーなど)に対して投与するこ
ことができる。

該化合物またはその塩の投与量は、症状などにより差異はあるが、経口投
与の場合、一般的に成人(体重 60 kg として)の拒食症患者においては、
15 一日につき約 0.1~100 mg、好ましくは約 1.0~50 mg、より好ま
しくは約 1.0~20 mg である。非経口的に投与する場合は、その 1 回投
与量は投与対象、対象臓器、症状、投与方法などによっても異なるが、例え
ば、注射剤の形では通常成人(体重 60 kg として)の拒食症患者において
は、一日につき約 0.01~30 mg 程度、好ましくは約 0.1~20 mg
20 程度、より好ましくは約 0.1~10 mg 程度を静脈注射により投与するの
が好都合である。他の動物の場合も、体重 60 kg 当たりに換算した量を投
与することができる。

[本発明のスクリーニング方法B]

本発明は、本発明の OT7T022 遺伝子発現不全非ヒト動物に、試験化
合物を投与し、レポーター遺伝子の発現を検出することを特徴とする本発明
25 の遺伝子に対するプロモーターの活性を促進または阻害する化合物またはそ
の塩のスクリーニング方法を提供する。

上記スクリーニング方法において、本発明の OT7T022 遺伝子発現不

全非ヒト動物としては、前記した本発明のOT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物の中でも、OT7T022遺伝子がレポーター遺伝子を導入することにより不活性化され、該レポーター遺伝子がOT7T022遺伝子に対するプロモーターの制御下で発現しうるものが用いられる。

5 試験化合物としては、前記と同様のものがあげられる。

レポーター遺伝子としては、前記と同様のものが用いられ、 β -ガラクトシダーゼ遺伝子 (lacZ) 、可溶性アルカリフェオヌクターゼ遺伝子またはルシフェラーゼ遺伝子などが好適である。

OT7T022遺伝子をレポーター遺伝子で置換された本発明のOT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物では、レポーター遺伝子がOT7T022遺伝子に対するプロモーターの支配下に存在するので、レポーター遺伝子がコードする物質の発現をトレースすることにより、プロモーターの活性を検出することができる。

例えば、OT7T022遺伝子領域の一部を大腸菌由来の β -ガラクトシダーゼ遺伝子 (lacZ) で置換している場合、本来、OT7T022遺伝子の発現する組織で、OT7T022の代わりに β -ガラクトシダーゼが発現する。従って、例えば、5-プロモ-4-クロロ-3-インドリル- β -ガラクトピラノシド (X-gal) のような β -ガラクトシダーゼの基質となる試薬を用いて染色することにより、簡便にOT7T022の動物生体内における発現状態を観察することができる。具体的には、OT7T022遺伝子欠損マウスまたはその組織切片をグルタルアルデヒドなどで固定し、リン酸緩衝生理食塩液 (PBS) で洗浄後、X-galを含む染色液で、室温または37°C付近で、約30分ないし1時間反応させた後、組織標本を1mM EDTA/PBS溶液で洗浄することによって、 β -ガラクトシダーゼ反応を停止させ、呈色を観察すればよい。また、常法に従い、lacZをコードするmRNAを検出してもよい。

例えば、該スクリーニング方法において、試験動物に試験化合物を投与した場合、レポーター蛋白質の発現が約10%以上、好ましくは約30%以上、

より好ましくは約50%以上増加した場合、該試験化合物をOT7T022遺伝子に対するプロモーター活性を促進する化合物またはその塩として選択でき、試験動物に試験化合物を投与した場合、レポーター蛋白質の発現が約10%以上、好ましくは約30%以上、より好ましくは約50%以上減少した場合、該試験化合物をOT7T022遺伝子に対するプロモーター活性を阻害する化合物またはその塩として選択できる。

上記スクリーニング方法を用いて得られる化合物またはその塩は、上記した試験化合物から選ばれた物質であり、OT7T022遺伝子に対するプロモーター活性を促進または阻害する化合物またはその塩である。

該スクリーニング方法で得られた化合物の塩としては、生理学的に許容される酸（例、無機酸など）や塩基（例、有機酸など）などとの塩が用いられ、とりわけ生理学的に許容される酸付加塩が好ましい。この様な塩としては、例えば、無機酸（例えは、塩酸、リン酸、臭化水素酸、硫酸など）との塩、あるいは有機酸（例えは、酢酸、ギ酸、プロピオン酸、フマル酸、マレイン酸、コハク酸、酒石酸、クエン酸、リンゴ酸、蔥酸、安息香酸、メタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸など）との塩などが用いられる。

OT7T022遺伝子に対するプロモーター活性を促進する化合物またはその塩は、OT7T022の発現を促進し、OT7T022の機能を促進することができるので、例えは、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加、筋力低下など、特に筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下など疾患の予防・治療・改善剤などの医薬として使用することができる。

一方、OT7T022遺伝子に対するプロモーター活性を阻害する化合物またはその塩は、OT7T022の発現を阻害し、OT7T022の機能を

阻害することができるので、例えば、筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少の予防・治療・改善剤、鎮痛剤、モルヒネの鎮痛作用促進剤、モルヒネ耐性回避剤、モルヒネ依存性回避剤などの医薬として使用することができる。

5 さらに、上記スクリーニングで得られた化合物から誘導される化合物も同様に用いることができる。

該スクリーニング方法で得られた化合物またはその塩を含有する医薬は、前記したスクリーニング方法Aで得られた化合物またはその塩を含有する医薬と同様にして製造することができる。

10 このようにして得られる製剤は、安全で低毒性であるので、例えば、ヒトまたは哺乳動物（例えば、ラット、マウス、モルモット、ウサギ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ウマ、ネコ、イヌ、サルなど）に対して投与することができる。

該化合物またはその塩の投与量は、対象疾患、投与対象、投与ルートなどにより差異はあるが、例えば、痛覚障害の治療目的でOT7T022遺伝子に対するプロモーター活性を促進する物質を経口投与する場合、一般的に成人患者（体重60kgとして）においては、一日につき該化合物またはその塩を約0.1～100mg、好ましくは約1.0～50mg、より好ましくは約1.0～20mg投与する。非経口的に投与する場合は、該化合物またはその塩の1回投与量は投与対象、対象疾患などによっても異なるが、例えば、痛覚障害の治療目的でOT7T022遺伝子に対するプロモーター活性を促進する化合物またはその塩を注射剤の形で通常成人患者（体重60kgとして）に投与する場合、一日につき該物質を約0.01～30mg程度、好ましくは約0.1～20mg程度、より好ましくは約0.1～10mg程度を静脈注射により投与するのが好都合である。他の動物の場合も、体重60kg当たりに換算した量を投与することができる。

25 このように、本発明のOT7T022遺伝子発現不全非ヒト動物は、OT7T022遺伝子に対するプロモーターの活性を促進または阻害する化合物またはその塩をスクリーニングする上で極めて有用であり、OT7T022

遺伝子発現不全に起因する各種疾患の原因究明または予防・治療・改善薬の開発に大きく貢献することができる。

また、OT7T022遺伝子のプロモーター領域を含有するDNAを使って、その下流に種々の蛋白質をコードする遺伝子を連結し、これを動物の卵細胞に注入していわゆるトランスジェニック動物（遺伝子移入動物）を作成すれば、特異的にそのペプチドを合成させ、その生体での作用を検討することも可能となる。さらに上記プロモーター部分に適当なレポーター遺伝子を結合させ、これが発現するような細胞株を樹立すれば、OT7T022そのものの体内での産生能力を特異的に促進もしくは抑制する作用を持つ低分子化合物の探索系として使用できる。

(10) 各種薬物の作用メカニズムの解説方法

OT7T022を用いることによって、各種薬物がOT7T022を介して薬理効果を発揮しているか否かを確認することができる。

すなわち、本発明は、

(1) OT7T022を用いることを特徴とする、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加、筋力低下、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少に対する予防・治療・改善薬、鎮痛薬、モルヒネの鎮痛作用促進薬、モルヒネ耐性回避薬などがOT7T022に結合することを確認する方法、

(2) OT7T022を用いることを特徴とする、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加、筋力低下など、

特に筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量（特に、夜間自発行動量）の増加または筋力低下に対する予防・治療・改善薬がOT7T022に対するアゴニストであることを確認する方法、

5 (3) OT7T022を用いることを特徴とする、筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量（特に、夜間自発行動量）の減少に対する予防・治療・改善薬、鎮痛薬、モルヒネの鎮痛作用促進薬、モルヒネ耐性回避薬などがOT7T022に対するアンタゴニストであることを確認する方法、

10 (4) 各薬をOT7T022に接触させた場合における、各薬とOT7T022との結合量を測定することを特徴とする上記（1）～（3）記載のスクリーニング方法を提供する。

この確認方法は、前記したR F R P と OT7T022との結合性を変化させる化合物またはその塩のスクリーニング方法において、試験化合物に代えて、上記の薬物を使用することによって実施することができる。

また、本発明の確認方法用キットは、前記したR F R P と OT7T022との結合性を変化させる化合物のスクリーニング用キットにおいて、試験化合物に代えて、上記の薬物を含有するものである。

20 このように、本発明の確認方法を用いることによって、市販または開発途中の各種薬物がOT7T022を介して薬理効果を発揮していることを確認することができる。

本明細書および図面において、塩基やアミノ酸などを略号で表示する場合、I U P A C - I U B Commission on Biochemical Nomenclatureによる略号あるいは当該分野における慣用略号に基づくものであり、その例を下記する。またアミノ酸に関し光学異性体があり得る場合は、特に明示しなければL体を示すものとする。

DNA : デオキシリボ核酸

cDNA : 相補的デオキシリボ核酸

A	: アデニン
T	: チミン
G	: グアニン
C	: シトシン
5 I	: イノシン
R	: アデニン (A) またはグアニン (G)
Y	: チミン (T) またはシトシン (C)
M	: アデニン (A) またはシトシン (C)
K	: グアニン (G) またはチミン (T)
10 S	: グアニン (G) またはシトシン (C)
W	: アデニン (A) またはチミン (T)
B	: グアニン (G) 、グアニン (G) またはチミン (T)
D	: アデニン (A) 、グアニン (G) またはチミン (T)
V	: アデニン (A) 、グアニン (G) またはシトシン (C)
15 N	: アデニン (A) 、グアニン (G) 、シトシン (C) もしくはチミン (T) または不明もしくは他の塩基
RNA	: リボ核酸
mRNA	: メッセンジャー リボ核酸
dATP	: デオキシアデノシン三リン酸
20 dTTP	: デオキシチミジン三リン酸
dGTP	: デオキシグアノシン三リン酸
dCTP	: デオキシシチジン三リン酸
ATP	: アデノシン三リン酸
EDTA	: エチレンジアミン四酢酸
25 SDS	: ドデシル硫酸ナトリウム
BHA	: ベンズヒドリルアミン
pMBHA	: p-メチルベンズヒドリルアミン
To s	: p-トルエンスルフォニル

	B z l	: ベンジル
	B o m	: ベンジルオキシメチル
	B o c	: t-ブチルオキシカルボニル
	DCM	: ジクロロメタン
5	H O B t	: 1-ヒドロキシベンズトリアゾール
	D C C	: N, N'-ジシクロヘキシルカルボジイミド
	T F A	: トリフルオロ酢酸
	D I E A	: ジイソプロピルエチルアミン
	G l y	: グリシン
10	A l a またはA	: アラニン
	V a l またはV	: バリン
	L e u またはL	: ロイシン
	I l e またはI	: イソロイシン
	S e r またはS	: セリン
15	T h r またはT	: スレオニン
	C y s またはC	: システイン
	M e t またはM	: メチオニン
	G l u またはE	: グルタミン酸
	A s p またはD	: アスパラギン酸
20	L y s またはK	: リジン
	A r g またはR	: アルギニン
	H i s またはH	: ヒスチジン
	P h e またはF	: フェニルアラニン
	T y r またはY	: チロシン
25	T r p またはW	: トリプトファン
	P r o またはP	: プロリン
	A s n またはN	: アスパラギン
	G l n またはQ	: グルタミン

p G l u : ピログルタミン酸

本願明細書の配列表の配列番号は、以下の配列を示す。

[配列番号： 1]

R F R P のアミノ酸配列（ヒト型）を示す。

5 [配列番号： 2]

配列番号： 1 で表わされるアミノ酸配列を有するR F R P をコードするD
N A の塩基配列を示す。

[配列番号： 3]

R F R P のアミノ酸配列（ヒト型）を示す。

10 [配列番号： 4]

配列番号： 3 で表わされるアミノ酸配列を有するR F R P をコードするD
N A の塩基配列を示す。

[配列番号： 5]

R F R P のアミノ酸配列（ウシ型）を示す。

15 [配列番号： 6]

配列番号： 5 で表わされるアミノ酸配列を有するR F R P をコードするD
N A の塩基配列を示す。

[配列番号： 7]

R F R P のアミノ酸配列（ラット型）を示す（リクローニング前）。

20 [配列番号： 8]

配列番号： 7 で表わされるアミノ酸配列を有するR F R P をコードするD
N A の塩基配列を示す。

[配列番号： 9]

R F R P のアミノ酸配列（マウス型）を示す。

25 [配列番号： 10]

配列番号： 9 で表わされるアミノ酸配列を有するR F R P をコードするD
N A の塩基配列を示す。

[配列番号： 11]

ラット由来G蛋白質共役型レセプター蛋白質rOT7T022のアミノ酸配列を示す。

[配列番号：12]

ラット由来G蛋白質共役型レセプター蛋白質rOT7T022をコードするcDNAの塩基配列を示す。

[配列番号：13]

RFRP部分ペプチドのアミノ酸配列を示す。

[配列番号：14]

RFRP部分ペプチドのアミノ酸配列を示す。

10 [配列番号：15]

RFRP部分ペプチドのアミノ酸配列を示す。

[配列番号：16]

配列番号：1で表わされるアミノ酸配列の第81番目(Met)～第92番目(Phe)のアミノ酸配列を含有するペプチドをコードする塩基配列を示す。

15 [配列番号：17]

配列番号：1で表わされるアミノ酸配列の第101番目(Ser)～第112番目(Ser)のアミノ酸配列を含有するペプチドをコードする塩基配列を示す。

[配列番号：18]

配列番号：1で表わされるアミノ酸配列の第124番目(Val)～第131番目(Phe)のアミノ酸配列を含有するペプチドをコードする塩基配列を示す。

[配列番号：19]

配列番号：1で表わされるアミノ酸配列の第1番目(Met)～第92番目(Phe)のアミノ酸配列を含有するペプチドをコードする塩基配列を示す。

[配列番号：20]

配列番号：1で表わされるアミノ酸配列の、第1番目(Met)～第112番目(Ser)のアミノ酸配列を含有するペプチドをコードする塩基配列を示す。

[配列番号：21]

配列番号：1で表わされるアミノ酸配列の、第1番目(Met)～第131番

目 (Phe) のアミノ酸配列を含有するペプチドをコードする塩基配列を示す。

[配列番号： 2 2]

R F R P のアミノ酸配列（ラット型）を示す（リクローニング後）。

[配列番号： 2 3]

5 配列番号： 2 2 で表わされるアミノ酸配列を有する R F R P をコードする DNA の塩基配列を示す。

[配列番号： 2 4]

ヒト由来 G 蛋白質共役型レセプター蛋白質 h O T 7 T 0 2 2 をコードするアミノ酸配列を示す。

10 [配列番号： 2 5]

配列番号： 2 4 で表されるアミノ酸配列を有する h O T 7 T 0 2 2 をコードする DNA の塩基配列を示す。

[配列番号： 2 6]

15 配列番号： 2 4 で表されるアミノ酸配列を有する h O T 7 T 0 2 2 をコードする DNA の塩基配列を示す。

[配列番号： 2 7]

マウス由来 G 蛋白質共役型レセプター蛋白質 O T 7 T 0 2 2 の部分アミノ酸配列を示す。

[配列番号： 2 8]

20 配列番号： 2 7 で表されるアミノ酸配列を有するマウス由来 O T 7 T 0 2 2 をコードするゲノム DNA の塩基配列を示す。

[配列番号： 2 9]

実施例 3 で使用したプライマーの塩基配列を示す。

[配列番号： 3 0]

25 実施例 3 で使用したプライマーの塩基配列を示す。

[配列番号： 3 1]

実施例 3 で使用したプライマーの塩基配列を示す。

[配列番号： 3 2]

配列番号：27で表されるアミノ酸配列を有するマウス由来OT7T022をコードするゲノムDNAの塩基配列を示す。配列番号：28で表される塩基配列中のnを特定した配列である。

後述の実施例1で得られた形質転換体*Escherichia coli* JM109/pKS-OT7T0221は2002年10月17日から茨城県つくば市東1丁目1番地1 中央第6（郵便番号305-8566）の独立行政法人産業技術総合研究所 特許生物寄託センターに寄託番号FERM-BP-8210として寄託されている。

後述の実施例1で得られた形質転換体*Escherichia coli* JM109/pKS-OT7T0222は2002年10月17日から茨城県つくば市東1丁目1番地1 中央第6（郵便番号305-8566）の独立行政法人産業技術総合研究所 特許生物寄託センターに寄託番号FERM-BP-8211として寄託されている。

後述の実施例1で得られた形質転換体*Escherichia coli* JM109/pKS-OT7T0223は2002年10月17日から茨城県つくば市東1丁目1番地1 中央第6（郵便番号305-8566）の独立行政法人産業技術総合研究所 特許生物寄託センターに寄託番号FERM-BP-8212として寄託されている。

後述の実施例1で得られた形質転換体*Escherichia coli* JM109/pKS-OT7T0224は2002年10月17日から茨城県つくば市東1丁目1番地1 中央第6（郵便番号305-8566）の独立行政法人産業技術総合研究所 特許生物寄託センターに寄託番号FERM-BP-8213として寄託されている。

後述の実施例2で得られた形質転換体*Escherichia coli* JM109/p022Tgv-2は2002年10月17日から茨城県つくば市東1丁目1番地1 中央第6（郵便番号305-8566）の独立行政法人産業技術総合研究所 特許生物寄託センターに寄託番号FERM-BP-8214として寄託されている。

実施例

以下に、実施例を挙げて本発明をさらに具体的に説明するが、本発明はそれに限定されるものではない。なお、大腸菌を用いての遺伝子操作法は、モレキュラー・クローニング (Molecular cloning) に記載されている方法に従
5 った。

実施例1 マウスOT7T022のクローニング

ラットOT7T022 cDNA (配列番号: 12、WO 00/29441号) をプローブにした。ラットcDNA の580–1170 bpのDNA断片をプローブとして作製した(PCR-DIG プローブ合成キット、ロシュダイアゴニスティックス社)。その
10 プローブを用いて、マウス129SvJラムダゲノムライブラリー (ストラタジーン社) に1st プラークハイブリダイゼーションを行った結果、陽性プラークが6個得られた。1st プラークハイブリダイゼーションで得られた6個の陽性
15 プラークに対して2nd プラークハイブリダイゼーションを行い、2個の陽性クローンを単離した。

サザンハイブリダイゼーションを行った結果、約 4.5 kbpの Bam HI断片に
OT7T022 のコード領域が存在することが判明した。常法によりクローニング
したDNA 断片をシークエンサー(パーキンエルマー社)により塩基配列を調べた
結果、ラットOT7T022の3' 側 エクソン (0.9 kbp) と94%の相同性を有する
断片であり、マウスOT7T022ゲノム DNAであることを確認した。さらにOT7T022
20 をコードするBam HI 断片の5'側3.8 kbpおよび3'側5.5 kbpのBam HI 断片をク
ローニングした。サザン解析により3' 側 エクソンから1.8 kbp以上はなれた
上流に一つのエクソンが存在することがわかった (配列番号: 28 または配
列番号: 32)。

マウスOT7T022ゲノム DNAの断片を大腸菌 JM109 株に形質転換し、形質
25 転換体 *Escherichia coli* JM109/pKS-OT7T0221、形質転換体 *Escherichia coli* JM109/p
KS-OT7T0222、形質転換体 *Escherichia coli* JM109/pKS-OT7T0223、形質転換体 *Escherichia*

a c o l i J M 1 0 9 / p K S - O T 7 T 0 2 2 4 を取得した。

実施例2 ターゲッティングベクターの構築およびES相同組み換えの作製

OT7T022ターゲッティングベクターの構築は、3'側エクソンの5'側 Sac I-Bam HI断片(3.2 kbp)、3'側BstEII-Xho I断片(5.2 kbp)、ネオマイシン耐性遺伝子およびジフテリアトキシン遺伝子を用いて行い、3'側エクソン1.2 kbpを欠失させたOT7T022ターゲッティングベクターp022Tgv-2の構築を終了した(図1)。OT7T022ターゲッティングベクターp022Tgv-2を大腸菌J M 1 0 9株に形質転換し、形質転換体Escherichia coli J M 1 0 9 / p 0 2 2 T g v - 2 を取得した。OT7T022ターゲッティングベクターをマウス129SvEv系統由来ES細胞(AB2.2系統)にエレクトロポレーションにより導入した。エレクトロポレーションはジーンパルサー(バイオラッド社製)を用いて電圧230V、抵抗値500μF、DNA溶液濃度30μg/mlの条件を設定して行った。

遺伝子導入実験は3回行い、それぞれ1000株以上のネオマイシン耐性株を得ることができた。ターゲッティングベクターp022Tgv-2によって得られた739株のネオマイシン耐性株を24ウェルプレートで培養し、-70℃凍結融解、Proteinase K処理後、エタノール沈殿によりDNAを抽出した。

そのうち595株のゲノムに対して5'側のBam HI-Xho I 600 bp断片(ターゲッティングベクターに用いたゲノムの外側の領域)をプローブとし、サザンハイブリダイゼーションを行った。その結果、6株に相同組換え体と推定される5.4 kbのバンドがみられた(野生型3.8kb)。

相同組換え体と考えられるDNA断片が検出された6種のES細胞株(No. 126, 130, 283, 491, 532, 545)について、再確認のためサザン解析を行った。凍結保存しておいた各細胞を培養後、DNAを抽出し、Bam HI-Xho I切断後、上記600 bp断片をプローブとし、サザンハイブリダイゼーションを行った。その結果、全ての細胞において5.4 kb断片(野生型は3.8 kb断片のみが観察される)が再確認できた。また、プローブをネオマイシン耐性遺伝子としてサザンハイブリダイゼーションを行った結果、2 kb付近に野生型、組換え体

共通に見られるバンドがあつたが、組換え体のみに5.4 kbのバンドが確認でき、6種のES細胞すべてが相同組換え体であることが確認できた。

これら6系統の相同組換え体のうち増殖が良好であった3系統の相同組換え体細胞株（No. 130, 283, 532）について核型分析のためフィーダー細胞存在下、ES細胞を25cm²フラスコにコンフルエントになるまで培養し、コルセミドを添加（最終細胞密度0.1 μg/ml）し、37℃、2時間培養した。PBSで洗浄後、トリプシン処理し、遠心1000rpm、5分した。ペレットに0.075M KCl 4mlを添加し室温で20分放置後、細胞浮遊液にカルノア液（酢酸：メタノール比=1:3）を1滴添加後穏やかに懸濁した。室温放置60分させ、遠心し、ペレットをカルノア液4mlで穏やかに懸濁し、さらに室温放置した。30分5回程度繰り返した。
遠心後ペレットにカルノア液2～3mlを加え適度な濃度に調製し、スライドグラス上に細胞浮遊液を2～3滴滴下した。風乾後、3%ギムザ溶液で染色し、顕微鏡下で分裂期中期の染色体観察を行った。結果、正常核型を有する細胞の割合は61～69%であった。3系統の相同組換え体細胞株の核型異常がみられなかつたので、増殖性の良好な細胞株No. 283を選抜した。

実施例3 ノックアウトマウスの作製

相同組み換え細胞株No. 283をC57BL/6系統マウス胚盤胞へのインジェクションを常法により行った。インジェクションされた胚盤胞は別途精管結紮マウスと交配することによって得られた偽妊娠マウス卵管に移植することによって妊娠させた。283株については移植胚の約半分が産仔として生まれ、75%がキメラマウスであった。雄キメラマウスはC57BL/6系統雌マウスと交配し、産仔での生殖系列移行およびヘテロマウスの取得をおこなった。

キメラとC57BL 系統マウスとの交配によって51 匹のES細胞 由来マウスが得られた。マウス尾よりゲノム DNAを精製し、まずPCR による遺伝子型判定の条件を検討した。検討の結果プライマーはターゲティングした領域の3'側(AGGTGCTCAGTGTAGAACAGTGG (配列番号: 29))を共通とし、また5'側は野生型検出用として、欠損させた領域内の終止コドン付近配列(ATCCCAGCCTGGAACATTTGAGG (配列番号: 30))、変異型検出用としてネオ

マイシン耐性遺伝子内配列 (TCATAGCCGAATACTGGTCTCCAC (配列番号 : 31)) とし、ポリメラーゼはKOD-plus- (東洋紡株式会社製) を用いた。野生型は300 bp断片のみを検出し、ヘテロ欠損個体であれば、300 bp および 600 bp断片を検出できるように設計されたPCR による遺伝子判定の結果、ヘテロ欠損マウスを得ることができた。次に、サザンハイブリダイゼーションを行って、
5 遺伝子欠損の確認を行った。

実施例4 臓器重量の変化

雄ホモ欠損マウスの生後8週齢個体を頸椎脱臼により屠殺し、解剖を行った。
各主要臓器を取り出して重量測定を行った。その結果、臓器重量においては野
10 生型マウスとホモ欠損マウスに差異は認められなかった。生後13週齢の臓器
重量測定の結果では、胸腺において野生型マウスに比べ、ホモ欠損マウスで有
意な増加がみられた。

実施例5 体重、飲水量、摂食量

ホモ欠損マウスの体重、摂餌量および飲水量について経時的变化を調べた。
15 離乳後雄ホモ欠損マウスの体重変化は、野生型マウスに比べ差異はみられなかっ
た。摂餌量および飲水量の経時的变化において雄雌性ホモ欠損マウスとも
野生型マウスと差異はみられなかった。

実施例6 行動異常

日常行動および外見観察はIrwin (1968) の方法に準拠して行った。その結
20 果、生後6ヶ月齢のホモ欠損マウス(雄性2例中、2例)において異常歩行が観察
された。別ロットのホモ欠損マウス(7週齢)の中に後退歩行がみられ、後肢を
引きずるような歩行異常も観察された。さらに振戦あるいは痙攣などを示す
個体がみられたが、その程度は個体間差異がみられた。これら行動異常は
C57BL/6Jおよび129SvEv系統の雑種において観察された。

実施例7 侵害刺激に対する反応

侵害刺激に対する反応について評価するためマウスで用いられている方法
(Wilson SG, Mogil JS. Behav Brain Res 125:65-73, 2001)のなかで熱侵害
刺激に対する反応性を評価するためホットプレート試験(熱板法とも呼ぶ)

を行った。

ホットプレート試験は市販のホットプレート式鎮痛効果測定装置を用いて行った。最初、55°Cに熱したホットプレート上に直径15cm高さ20cmのガラス製円筒を置き、マウスをその円筒内にいれ、マウスが後肢を舐めるあるいは跳躍などの行動が現れるまでの時間を測定した。その結果、雄ホモ欠損マウスにおいて後肢を舐めるあるいは跳躍時間が有意に遅延した。

実施例8 攻撃行動

雄ホモ欠損マウスの行動観察を行ったところ、野生型マウスよりも他の雌雄マウスに対する攻撃性が観察された。さらに一部のマウスにおいてはハンドリング時にtail rattlingが観察され、飼育時においても軽微な挙尾反応が観察された。観察用ケージに雄マウスを2個体入れて相互の攻撃行動を観察する方法(Nature 378:383-386, 1995)および(Nature 265:1875-1878, 1994)によりホモ欠損マウスの攻撃反応潜時を測定した。その結果、攻撃行動までの潜時がホモ欠損マウスで有意に短かった。これらの行動はC57BL/6Jおよび129SvEv系統の雑種において観察された。

実施例9 モルヒネ投与試験

C57BL/6Jコンジェニック系統11週齢の雄ホモ欠損マウスを用いて52°C湯の入った水槽に尾先端から3cmのところまで浸漬して尾が水槽から出るまでの時間を熱侵害刺激に対する応答性として評価した(tail immersion test、温湯法とも呼ぶ)。

実験の最大時間(cut off time)は20秒とした。ホモ欠損マウスおよびC57BL/6Jコンジェニック系統11週齢の野生型マウスはそれぞれvehicle投与群およびモルヒネ投与群に分けて実験を行った。投与前に上記のtail immersion testを行った結果、すべての群における反応平均時間に有意差はみられなかった。次にモルヒネ(kg体重当たり5mg)あるいはvehicleを腹腔内投与後、15分後、30分後に同じ方法でtail immersion testを実施した。モルヒネ投与雄ホモ欠損マウス群の反応時間は、その他の群より長くなった。モルヒネ投与前のtail immersion testには野生型マウスとホモ欠損マウスの

反応latencyに差異はあったが、モルヒネ投与した野生型マウスは15分および30分後、latencyは投与前に比べて有意に延長したのに対してモルヒネ投与したホモ欠損マウスにおいてはモルヒネ投与後も熱刺激に対する反応のlatencyはモルヒネ投与前と変わらなかった。

5

産業上の利用可能性

R F R P および O T 7 T 0 2 2 またはそれらをコードするD N A は、筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加または筋力低下などの予防・治療・改善薬

10 として有用である。

また、O 7 T 0 2 2 遺伝子発現不全非ヒト動物は、上記疾患の予防・治療・改善薬のスクリーニングに有用である。

請求の範囲

1. 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤。
5
2. ポリペプチドが配列番号：1、配列番号：3、配列番号：5、配列番号：7、配列番号：9または配列番号：22で表されるアミノ酸配列からなるポリペプチドである請求項1記載の剤。
10
3. 部分ペプチドが、
 - (i) 配列番号：1または配列番号：3で表わされるアミノ酸配列の第56番目(Ser)～第92番目(Phe)、第70番目(Met)～第92番目(Phe)、第73番目(Met)～第92番目(Phe)、第81番目(Met)～第92番目(Phe)または第84番目(Ser)～第92番目(Phe)のアミノ酸配列からなるペプチド、
15
 - (ii) 配列番号：1または配列番号：3で表わされるアミノ酸配列の第101番目(Ser)～第112番目(Ser)のアミノ酸配列からなるペプチド、
 - (iii) 配列番号：1または配列番号：3で表わされるアミノ酸配列の第101番目(Asn)～第131番目(Phe)、第104番目(Asn)～第131番目(Phe)、第115番目(Asn)～第131番目(Phe)、第124番目(Val)～第131番目(Phe)、第125番目(Pro)～第131番目(Phe)、第126番目(Asn)～第131番目(Phe)または第127番目(Leu)～第131番目(Phe)のアミノ酸配列からなるペプチド、
20
 - (iv) 配列番号：5で表わされるアミノ酸配列の第58番目(Ser)～第92番目(Phe)、第70番目(Lys)～第92番目(Phe)、第73番目(Met)～第92番目(Phe)、第81番目(Met)～第92番目(Phe)または第84番目(Ser)～第92番目(Phe)のアミノ酸配列からなるペプチド、
25
 - (v) 配列番号：5で表わされるアミノ酸配列の第101番目(Ser)～第1

12番目 (Leu) のアミノ酸配列からなるペプチド、

- (vi) 配列番号：5で表わされるアミノ酸配列の第101番目 (Ser) ~ 第131番目 (Phe) 、第104番目 (Ala) ~ 第131番目 (Phe) 、第115番目 (Asn) ~ 第131番目 (Phe) 、第124番目 (Val) ~ 第131番目 (Phe) 、
5 第125番目 (Pro) ~ 第131番目 (Phe) 、第126番目 (Asn) ~ 第131番目 (Phe) または第127番目 (Leu) ~ 第131番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド、
- (vii) 配列番号：9で表わされるアミノ酸配列の第58番目 (Ser) ~ 第94番目 (Phe) 、第72番目 (Val) ~ 第94番目 (Phe) 、第75番目 (Met) ~ 第94番目 (Phe) 、第83番目 (Val) ~ 第94番目 (Phe) または第84番目 (Pro) ~ 第94番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド、
10
- (viii) 配列番号：9で表わされるアミノ酸配列の第118番目 (Phe) ~ 第125番目 (Phe) 、第119番目 (Pro) ~ 第125番目 (Phe) 、第120番目 (Ser) ~ 第125番目 (Phe) または第121番目 (Leu) ~ 第125番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド、
15
- (ix) 配列番号：7または22で表わされるアミノ酸配列の第58番目 (Ser) ~ 第94番目 (Phe) 、第72番目 (Asp) ~ 第94番目 (Phe) 、第75番目 (Met) ~ 第94番目 (Phe) 、第83番目 (Val) ~ 第94番目 (Phe) または第84番目 (Pro) ~ 第94番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド、
20
- (x) 配列番号：7または22で表わされるアミノ酸配列の第118番目 (Phe) ~ 第125番目 (Phe) 、第119番目 (Pro) ~ 第125番目 (Phe) 、第120番目 (Ser) ~ 第125番目 (Phe) または第121番目 (Leu) ~ 第125番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド、
25
- (xi) 上記 (i) ~ (x) のペプチドのアミノ酸配列中の1~5個のアミノ酸が欠失したアミノ酸配列からなるペプチド、
- (xii) 上記 (i) ~ (x) のペプチドのアミノ酸配列に1~5個のアミノ酸が付加したアミノ酸配列からなるペプチド、
- (xiii) 上記 (i) ~ (x) のペプチドのアミノ酸配列に1~5個のアミノ酸が挿入されたアミノ酸配列からなるペプチド、

(xiv) 上記 (i) ~ (x) のペプチドのアミノ酸配列中の 1 ~ 5 個のアミノ酸で置換されたアミノ酸配列からなるペプチド、または

(xv) 上記 (xi) ~ (xiv) の欠失・付加・挿入・置換を組み合わせたアミノ酸配列からなるペプチドである請求項 1 記載の剤。

5 4. 配列番号：1 で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドをコードする D N A を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤。

10 5. D N A が配列番号：1、配列番号：3、配列番号：5、配列番号：7、配列番号：9 または配列番号：22 で表されるアミノ酸配列からなるポリペプチドをコードする D N A である請求項 4 記載の剤。

6. D N A が、

15 (i) 配列番号：1 または配列番号：3 で表わされるアミノ酸配列の第 56 番目 (Ser) ~ 第 92 番目 (Phe)、第 70 番目 (Met) ~ 第 92 番目 (Phe)、第 73 番目 (Met) ~ 第 92 番目 (Phe)、第 81 番目 (Met) ~ 第 92 番目 (Phe) または第 84 番目 (Ser) ~ 第 92 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド、

20 (ii) 配列番号：1 または配列番号：3 で表わされるアミノ酸配列の第 101 番目 (Ser) ~ 第 112 番目 (Ser) のアミノ酸配列からなるペプチド、

(iii) 配列番号：1 または配列番号：3 で表わされるアミノ酸配列の第 101 番目 (Asn) ~ 第 131 番目 (Phe)、第 104 番目 (Asn) ~ 第 131 番目 (Phe)、第 115 番目 (Asn) ~ 第 131 番目 (Phe)、第 124 番目 (Val) ~ 第 131 番目 (Phe)、第 125 番目 (Pro) ~ 第 131 番目 (Phe)、第 126 番目 (Asn) ~ 第 131 番目 (Phe) または第 127 番目 (Leu) ~ 第 131 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド、

25 (iv) 配列番号：5 で表わされるアミノ酸配列の第 58 番目 (Ser) ~ 第 92 番目 (Phe)、第 70 番目 (Lys) ~ 第 92 番目 (Phe)、第 73 番目 (Met) ~ 第 92 番目 (Phe)、第 81 番目 (Met) ~ 第 92 番目 (Phe) または第 84

番目 (Ser) ~ 第 92 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド、

(v) 配列番号 : 5 で表わされるアミノ酸配列の第 101 番目 (Ser) ~ 第 112 番目 (Leu) のアミノ酸配列からなるペプチド、

5 (vi) 配列番号 : 5 で表わされるアミノ酸配列の第 101 番目 (Ser) ~ 第 131 番目 (Phe) 、第 104 番目 (Ala) ~ 第 131 番目 (Phe) 、第 115 番目 (Asn) ~ 第 131 番目 (Phe) 、第 124 番目 (Val) ~ 第 131 番目 (Phe) 、第 125 番目 (Pro) ~ 第 131 番目 (Phe) 、第 126 番目 (Asn) ~ 第 131 番目 (Phe) または第 127 番目 (Leu) ~ 第 131 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド、

10 (vii) 配列番号 : 9 で表わされるアミノ酸配列の第 58 番目 (Ser) ~ 第 94 番目 (Phe) 、第 72 番目 (Val) ~ 第 94 番目 (Phe) 、第 75 番目 (Met) ~ 第 94 番目 (Phe) 、第 83 番目 (Val) ~ 第 94 番目 (Phe) または第 84 番目 (Pro) ~ 第 94 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド、

15 (viii) 配列番号 : 9 で表わされるアミノ酸配列の第 118 番目 (Phe) ~ 第 125 番目 (Phe) 、第 119 番目 (Pro) ~ 第 125 番目 (Phe) 、第 120 番目 (Ser) ~ 第 125 番目 (Phe) または第 121 番目 (Leu) ~ 第 125 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド、

20 (ix) 配列番号 : 7 または 22 で表わされるアミノ酸配列の第 58 番目 (Ser) ~ 第 94 番目 (Phe) 、第 72 番目 (Asp) ~ 第 94 番目 (Phe) 、第 75 番目 (Met) ~ 第 94 番目 (Phe) 、第 83 番目 (Val) ~ 第 94 番目 (Phe) または第 84 番目 (Pro) ~ 第 94 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド、

(x) 配列番号 : 7 または 22 で表わされるアミノ酸配列の第 118 番目 (Phe) ~ 第 125 番目 (Phe) 、第 119 番目 (Pro) ~ 第 125 番目 (Phe) 、第 120 番目 (Ser) ~ 第 125 番目 (Phe) または第 121 番目 (Leu) ~ 第 125 番目 (Phe) のアミノ酸配列からなるペプチド、

(xi) 上記 (i) ~ (x) のペプチドのアミノ酸配列中の 1 ~ 5 個のアミノ酸が欠失したアミノ酸配列からなるペプチド、

(xii) 上記 (i) ~ (x) のペプチドのアミノ酸配列に 1 ~ 5 個のアミノ酸が付加したアミノ酸配列からなるペプチド、

(xiii) 上記 (i) ~ (x) のペプチドのアミノ酸配列に 1 ~ 5 個のアミノ酸が挿入されたアミノ酸配列からなるペプチド、

(xiv) 上記 (i) ~ (x) のペプチドのアミノ酸配列中の 1 ~ 5 個のアミノ酸で置換されたアミノ酸配列からなるペプチド、または

5 (xv) 上記 (xi) ~ (xiv) の欠失・付加・挿入・置換を組み合わせたアミノ酸配列からなるペプチド、

をコードする DNA である請求項 4 記載の剤。

7. 配列番号：1 で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドをコードする DNA を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温変化、白血球数変化、血小板数変化、自発行動量の変化または筋力変化の診断剤。

10 8. 配列番号：1 で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩に対する抗体を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量の減少の予防・治療・改善剤。

15 9. 配列番号：1 で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩に対する抗体を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温変化、白血球数変化、血小板数変化、自発行動量の変化、筋力変化の診断剤。

20 10. 配列番号：1 で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドをコードする DNA に相補的な塩基配列またはその一部を含有するアンチセンス DNA を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量の減少の予防・治療・改善剤。

25 11. 配列番号：1 で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドの発現量を増

加させる化合物またはその塩を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板減少、自発行動量の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤。

12. 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドの発現量を減少させる化合物またはその塩を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数增加、血小板数增加または自発行動量の減少の予防・治療・改善剤。
5

13. 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤。
10

14. OT7T022が配列番号：11または配列番号：24で表されるアミノ酸配列からなるレセプター蛋白質である請求項13記載の剤。
15

15. 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドをコードするDNAを含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤。
20

16. DNAが配列番号：11または配列番号：24で表されるアミノ酸配列からなるレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドをコードするDNAである請求項15記載の剤。

17. 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドをコードするDNAを含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温変化、白血球数変化、血小板数変化、自発行動量の変化または筋力変化の診断剤。
25

18. 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一

のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対する抗体を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量の減少の予防・治療・改善剤。

- 5 19. 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対する抗体を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温変化、白血球数変化、血小板数変化、自発行動量の変化または筋力変化の診断剤。
- 10 20. 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドをコードするDNAに相補的な塩基配列またはその一部を含有するアンチセンスDNAを含有してなる筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量の減少の予防・治療・改善剤。
- 15 21. 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対するアゴニストを含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤。
- 20 22. 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対するアンタゴニストを含有してなる筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量の減少の予防・治療・改善剤。
- 25 23. 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドの発現量を増加させる化合物またはその塩を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤。

24. 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドの発現量を減少させる化合物またはその塩を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量の減少の予防・治療・改善剤。
25. 哺乳動物に対して、
- (i) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩、
 - 10 (ii) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドをコードするDNA、
 - (iii) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドの発現量を増加させる化合物またはその塩、
 - 15 (iv) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩、
 - (v) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドをコードするDNA、
 - 20 (vi) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対するアゴニスト、または
 - 25 (vii) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドの発現量を増加させる化合物またはその塩の有効量を投与することを特徴とする筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加または筋力低下の予防・

治療・改善方法。

26. 哺乳動物に対して、

- (i) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩に対する抗体、
5
(ii) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドをコードするDNAに相補的な塩基配列またはその一部を含有するアンチセンスDNA、
(iii) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドの発現量を減少させる化合物またはその塩、
10
(iv) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対する抗体、
(v) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドをコードするDNAに相補的な塩基配列またはその一部を含有するアンチセンスDNA、
15
(vi) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対するアンタゴニスト、または
20
(vii) 配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドの発現量を減少させる化合物またはその塩の有効量を投与することを特徴とする筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量の減少の予防・治療・改善方法。
25

27. 筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加または筋力低下の予防・治療・改善剤を製造するための

- (i) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩、
- 5 (ii) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドをコードするDNA、
- (iii) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドの発現量を増加させる化合物またはその塩、
- 10 (iv) 配列番号：1 1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩、
- (v) 配列番号：1 1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドをコードするDNA、
- 15 (vi) 配列番号：1 1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対するアゴニスト、または
- (vii) 配列番号：1 1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドの発現量を増加させる化合物またはその塩の使用。
28. 筋疾患、副腎機能障害、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量の減少の予防・治療・改善剤を製造するための
- 20 (i) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩に対する抗体、
- 25 (ii) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドをコードするDNAに相補的な塩基配列またはその一部を含有するアンチセンスDNA、

(iii) 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドまたはその部分ペプチドの発現量を減少させる化合物またはその塩、

5 (iv) 配列番号：1.1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対する抗体、

10 (v) 配列番号：1.1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドをコードするDNAに相補的な塩基配列またはその一部を含有するアンチセンスDNA、

15 (vi) 配列番号：1.1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩に対するアンタゴニスト、または

20 (vii) 配列番号：1.1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022またはその部分ペプチドの発現量を減少させる化合物またはその塩の使用。

29. OT7T022遺伝子が不活性化された哺乳動物胚幹細胞。

30. 薬剤耐性である請求項29記載の胚幹細胞。

31. 薬剤がネオマイシンである請求項29記載の胚幹細胞。

20 32. レポーター遺伝子の挿入によりOT7T022遺伝子が不活性化された請求項29記載の胚幹細胞。

33. レポーター遺伝子がlacZ遺伝子である請求項32記載の胚幹細胞。

34. 哺乳動物がマウスである請求項29記載の胚幹細胞。

35. OT7T022遺伝子が配列番号：1.2、配列番号：2.5、配列番号：26、配列番号：2.8または配列番号：3.2で表わされる塩基配列を含有する遺伝子である請求項29記載の胚幹細胞。

36. OT7T022遺伝子発現不全非ヒト哺乳動物。

37. レポーター遺伝子の挿入によりOT7T022遺伝子が不活性化された請求項36記載の動物。

38. 非ヒト哺乳動物がマウスである請求項36記載の動物。
39. OT7T022遺伝子が配列番号：12、配列番号：28または配列番号：32で表わされる塩基配列を含有する遺伝子である請求項36記載の動物。
- 5 40. 野生型非ヒト哺乳動物に比べて、胸腺退縮遅延がみられる請求項36記載の動物。
41. 野生型非ヒト哺乳動物に比べて、後退歩行がみられる請求項36記載の動物。
42. 野生型非ヒト哺乳動物に比べて、侵害刺激に対して鈍麻がみられる請求項36記載の動物。
- 10 43. 野生型非ヒト哺乳動物に比べて、攻撃的行動が多い請求項36記載の動物。
44. 野生型非ヒト哺乳動物に比べて、腎臓絶対重量または胸腺絶対重量の低下がみられる請求項36記載の動物。
- 15 45. 野生型非ヒト哺乳動物に比べて、白血球数または血小板数の減少がみられる請求項36記載の動物。
46. 野生型非ヒト哺乳動物に比べて、筋力が低下している請求項36記載の動物。
47. 請求項36記載の動物もしくはその組織またはそれらに由来する細胞を用いることを特徴とする、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加または筋力低下の予防・治療・改善薬のスクリーニング方法。
- 20 25 48. 請求項36記載の動物もしくはその組織またはそれらに由来する細胞に試験化合物を投与することを特徴とする請求項47記載のスクリーニング方法。
49. 請求項36記載の動物と他の病態モデル動物との交配によって生じる

病態モデル動物。

50. 請求項36記載の動物に対する薬剤誘発またはストレス負荷によって生じる病態モデル動物。

51. 請求項49記載の動物に対する薬剤誘発またはストレス負荷によって生じる病体モデル動物。

52. 請求項49～51のいずれかに記載の動物もしくはその組織またはそれらに由来する細胞を用いることを特徴とする、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加または筋力低下の予防・治療・改善薬のスクリーニング方法。

53. 請求項49～51のいずれかに記載の動物もしくはその組織またはそれらに由来する細胞に試験化合物を投与することを特徴とする、痛覚障害、眼疾患、下垂体疾患、筋疾患、心疾患、血液疾患、腎疾患、免疫疾患、副腎機能障害、摂食障害、肥満、情動障害、精神分裂病、うつ病、不安症、性機能障害、肥満、痙攣、てんかん、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加または筋力低下の予防・治療・改善薬のスクリーニング方法。

54. 請求項37記載の動物に、試験化合物を投与し、レポーター遺伝子の発現を検出することを特徴とするOT7T022遺伝子に対するプロモーター活性を促進または阻害する化合物またはその塩のスクリーニング方法。

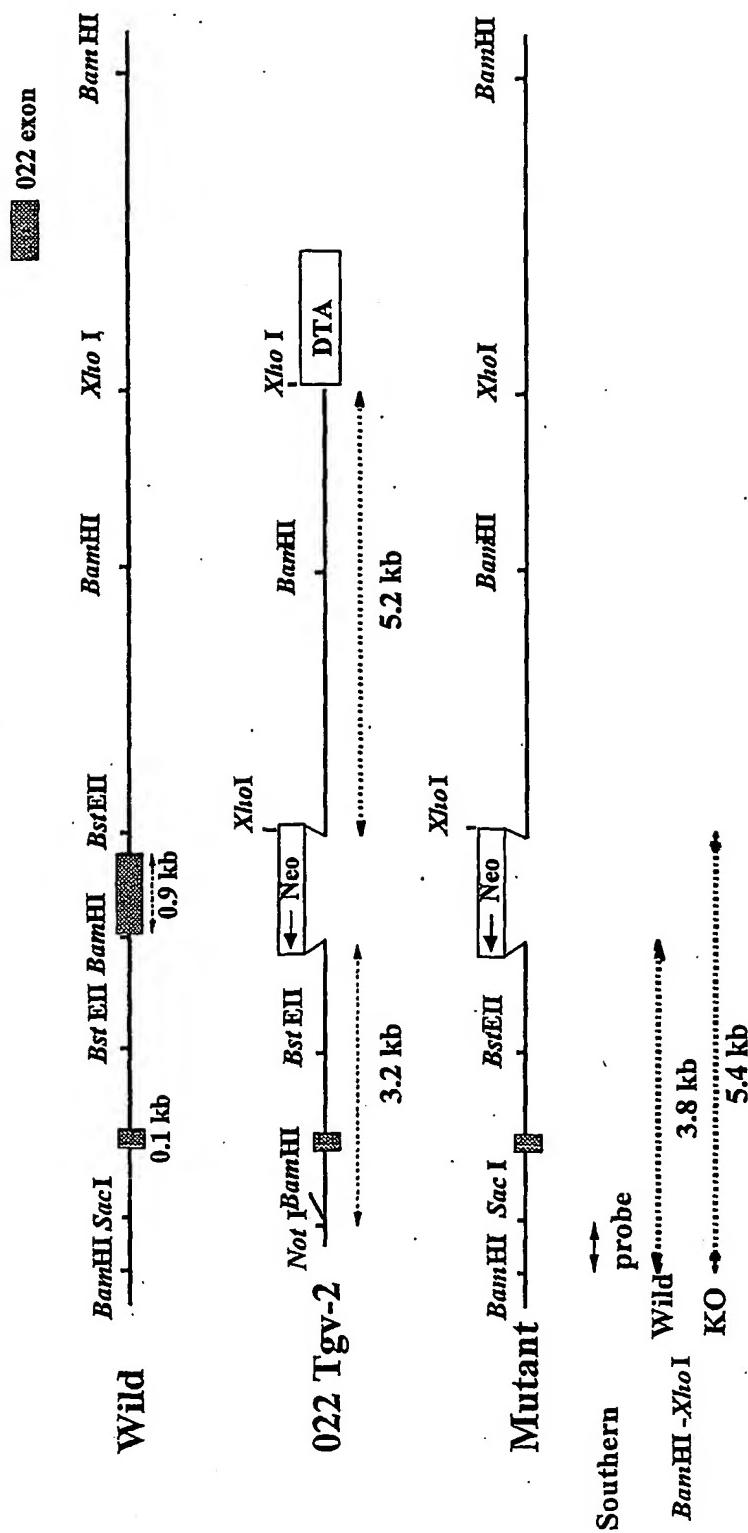
55. 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのアミドもしくはそのエステルまたはその塩、および（または）配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩を用いることを特徴とする筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、

体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加、筋力低下、体温減少、白血球数増加、血小板数増加または自発行動量の減少の予防・治療・改善薬のスクリーニング方法。

- 5 6. 配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一の
5 アミノ酸配列を含有するポリペプチド、その部分ペプチドもしくはそのアミ
ドもしくはそのエステルまたはその塩、および（または）配列番号：11で
表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有す
るレセプター蛋白質OT7T022、その部分ペプチドまたはその塩を含有
してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、
10 白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加、筋力低下、体温減少、白
血球数増加、血小板数増加または自発行動量の減少の予防・治療・改善薬の
スクリーニング用キット。

1/1

图 1



SEQUENCE LISTING

<110> Takeda Chemical Industries, Ltd.

<120> Novel Use of RFRP and OT7T022

<130> 3076WOOP

<150> JP 2002-232684

<151> 2002-08-09

<160> 32

<210> 1

<211> 180

<212> PRT

<213> Human

<400> 1

Met Glu Ile Ile Ser Ser Lys Leu Phe Ile Leu Leu Thr Leu Ala Thr

1 5 10 15

Ser Ser Leu Leu Thr Ser Asn Ile Phe Cys Ala Asp Glu Leu Val Met

20 25 30

Ser Asn Leu His Ser Lys Glu Asn Tyr Asp Lys Tyr Ser Glu Pro Arg

35 40 45

Gly Tyr Pro Lys Gly Glu Arg Ser Leu Asn Phe Glu Glu Leu Lys Asp

50 55 60

Trp Gly Pro Lys Asn Val Ile Lys Met Ser Thr Pro Ala Val Asn Lys

65 70 75 80

Met Pro His Ser Phe Ala Asn Leu Pro Leu Arg Phe Gly Arg Asn Val

85 90 95

Gln Glu Glu Arg Ser Ala Gly Ala Thr Ala Asn Leu Pro Leu Arg Ser

100 105 110

Gly Arg Asn Met Glu Val Ser Leu Val Arg Arg Val Pro Asn Leu Pro

115 120 125

Gln Arg Phe Gly Arg Thr Thr Thr Ala Lys Ser Val Cys Arg Met Leu

130

135

140

Ser Asp Leu Cys Gln Gly Ser Met His Ser Pro Cys Ala Asn Asp Leu

145

150

155

160

Phe Tyr Ser Met Thr Cys Gln His Gln Glu Ile Gln Asn Pro Asp Gln

165

170

175

Lys Gln Ser Arg

180

<210> 2

<211> 540

<212> DNA

<213> Human

<400> 2

atgaaattttcatcaaaaactattcattttattgactttagccacttc aagcttgtta 60
acatcaaaca tttttgtgc agatgaatttgtatgtcca atcttcacag caaagaaaaat 120
tatgacaaat attctgagcc tagaggataccaaaaaggaaagaagcct caattttag 180
gaattaaaatggggacc aaaaaatgtt attaagatga gtacacctgc agtcaataaa 240
atgccacact cttcgccaa cttgccattt agatttggga ggaacgttca agaagaaaga 300
agtgtggag caacagccaa cctgcctctg agatctgga agaaatatgga ggtgagccctc 360
gtgagacgtg ttccctaacct gccccaaagg tttgggagaa caacaacagc caaaagtgtc 420
tgccaggatgc tgagtgattt gtgtcaagga tccatgcatt caccatgtgc caatgactta 480
tttactcca tgacctgcca gcaccaagaa atccagaatc ccgatcaaaa acagtcaagg 540

<210> 3

<211> 196

<212> PRT

<213> Human

<400> 3

Met Glu Ile Ile Ser Ser Lys Leu Phe Ile Leu Leu Thr Leu Ala Thr

1 5 10 15
Ser Ser Leu Leu Thr Ser Asn Ile Phe Cys Ala Asp Glu Leu Val Met
20 25 30
Ser Asn Leu His Ser Lys Glu Asn Tyr Asp Lys Tyr Ser Glu Pro Arg
35 40 45
Gly Tyr Pro Lys Gly Glu Arg Ser Leu Asn Phe Glu Glu Leu Lys Asp
50 55 60
Trp Gly Pro Lys Asn Val Ile Lys Met Ser Thr Pro Ala Val Asn Lys
65 70 75 80
Met Pro His Ser Phe Ala Asn Leu Pro Leu Arg Phe Gly Arg Asn Val
85 90 95
Gln Glu Glu Arg Ser Ala Gly Ala Thr Ala Asn Leu Pro Leu Arg Ser
100 105 110
Gly Arg Asn Met Glu Val Ser Leu Val Arg Arg Val Pro Asn Leu Pro
115 120 125
Gln Arg Phe Gly Arg Thr Thr Ala Lys Ser Val Cys Arg Met Leu
130 135 140
Ser Asp Leu Cys Gln Gly Ser Met His Ser Pro Cys Ala Asn Asp Leu
145 150 155 160
Phe Tyr Ser Met Thr Cys Gln His Gln Glu Ile Gln Asn Pro Asp Gln
165 170 175
Lys Gln Ser Arg Arg Leu Leu Phe Lys Lys Ile Asp Asp Ala Glu Leu
180 185 190
Lys Gln Glu Lys
195
<210> 4
<211> 588
<212> DNA

<213> Human

<400> 4

atggaaattttcatcaaaa	actattcattttattgactt	tagccacttc	aagcttgta	60
acatcaaaca	ttttttgtgc	agatgaatta	gtgatgtcca	120
tatgacaaat	attctgagcc	tagaggatac	ccaaaagggg	180
gaattaaaag	attggggacc	aaaaaatgtt	attaagatga	240
atgccacact	ccttcgccaa	cttgcatttgc	gtacacctgc	300
agtgcgtggag	caacagccaa	cctgcctctg	agatctggaa	360
gtgagacgtg	ttcctaacct	gccccaaagg	tttgggagaa	420
tgcaggatgc	tgagtgattt	gtgtcaagga	tccatgcatt	480
tttactcca	tgacctgcca	gcaccaagaa	atccagaatc	540
agactgctat	tcaagaaaaat	agatgatgca	gaattgaaac	588

<210> 5

<211> 196

<212> PRT

<213> Bovine

<400> 5

Met Glu Ile Ile Ser Leu Lys Arg Phe Ile Leu Leu Met Leu Ala Thr

1 5 10 15

Ser Ser Leu Leu Thr Ser Asn Ile Phe Cys Thr Asp Glu Ser Arg Met

20 25 30

Pro Asn Leu Tyr Ser Lys Lys Asn Tyr Asp Lys Tyr Ser Glu Pro Arg

35 40 45

Gly Asp Leu Gly Trp Glu Lys Glu Arg Ser Leu Thr Phe Glu Glu Val

50 55 60

Lys Asp Trp Ala Pro Lys Ile Lys Met Asn Lys Pro Val Val Asn Lys

65 70 75 80

Met Pro Pro Ser Ala Ala Asn Leu Pro Leu Arg Phe Gly Arg Asn Met

85	90	95
Glu Glu Glu Arg Ser Thr Arg Ala Met Ala His Leu Pro Leu Arg Leu		
100	105	110
Gly Lys Asn Arg Glu Asp Ser Leu Ser Arg Trp Val Pro Asn Leu Pro		
115	120	125
Gln Arg Phe Gly Arg Thr Thr Thr Ala Lys Ser Ile Thr Lys Thr Leu		
130	135	140
Ser Asn Leu Leu Gln Gln Ser Met His Ser Pro Ser Thr Asn Gly Leu		
145	150	155
Leu Tyr Ser Met Ala Cys Gln Pro Gln Glu Ile Gln Asn Pro Gly Gln		
165	170	175
Lys Asn Leu Arg Arg Arg Gly Phe Gln Lys Ile Asp Asp Ala Glu Leu		
180	185	190
Lys Gln Glu Lys		
195		

<210> 6

<211> 588

<212> DNA

<213> Boyine

<400> 6

atggaaatta ttccattaaa acgattcatt ttattgtatgt tagccacttc aagcttgtta	60
acatcaaaca tcttctgcac agacgaatca aggatgccca atctttacag caaaaagaat	120
tatgacaaat attccgagcc tagaggagat ctaggctggg agaaagaaag aagtcttact	180
tttgaagaag taaaagattt ggctccaaaa attaagatga ataaacctgt agtcaacaaa	240
atgccacctt ctgcagccaa cctgccactg agatttggga ggaacatgga agaagaaagg	300
agcacttaggg cgatggccca cctgcctctg agactcgaa aaaatagaga ggacagcctc	360
tccagatggg tccccaatct gccccagagg tttggaagaa caacaacagc caaaagcatt	420
accaagaccc ttagtaattt gctccagcag tccatgcatt caccatctac caatggctta	480

ctctactcca tggcctgccca gccccaaagaa atccagaatc ctggtaaaaa gaacctaagg 540
 agacggggat tccagaaaat agatgatgca gaattgaaac aagaaaaa 588
 <210> 7
 <211> 203
 <212> PRT
 <213> Rat
 <400> 7
 Met Glu Ile Ile Ser Ser Lys Arg Phe Ile Leu Leu Thr Leu Ala Thr
 1 5 10 15
 Ser Ser Phe Leu Thr Ser Asn Thr Leu Cys Ser Asp Glu Leu Met Met
 20 25 30
 Pro His Phe His Ser Lys Glu Gly Tyr Gly Lys Tyr Tyr Gln Leu Arg
 35 40 45
 Gly Ile Pro Lys Gly Val Lys Glu Arg Ser Val Thr Phe Gln Glu Leu
 50 55 60
 Lys Asp Trp Gly Ala Lys Lys Asp Ile Lys Met Ser Pro Ala Pro Ala
 65 70 75 80
 Asn Lys Val Pro His Ser Ala Ala Asn Leu Pro Leu Arg Phe Gly Arg
 85 90 95
 Asn Ile Glu Asp Arg Arg Ser Pro Arg Ala Arg Ala Asn Met Glu Ala
 100 105 110
 Gly Thr Met Ser His Phe Pro Ser Leu Pro Gln Arg Phe Gly Arg Thr
 115 120 125
 Thr Ala Arg Arg Ile Thr Lys Thr Leu Ala Gly Leu Pro Gln Lys Ser
 130 135 140
 Leu His Ser Leu Ala Ser Ser Glu Ser Leu Tyr Ala Met Thr Arg Gln
 145 150 155 160
 His Gln Glu Ile Gln Ser Pro Gly Gln Glu Gln Pro Arg Lys Arg Val

165

170

175

Phe Thr Glu Thr Asp Asp Ala Glu Arg Lys Gln Glu Lys Ile Gly Asn

180

185

190

Leu Gln Pro Val Leu Gln Gly Ala Met Lys Leu

195

200

<210> 8

<211> 609

<212> DNA

<213> Rat

<400> 8

atgaaaatta tttcatcaaa gcgattcatt ttattgactt tagcaacttc aagcttctta	60
acttcaaaca ccctttgttc agatgaatta atgatgcccc attttcacag caaagaagg	120
tatggaaaat attaccagct gagaggaatc ccaaaagggg taaaggaaag aagtgtcact	180
tttcaagaac tcaaagattt gggggcaaag aaagatatta agatgagtcc agccctgcc	240
aacaaagtgc cccactcagc agccaacctt cccctgaggt ttgggaggaa catagaagac	300
agaagaagcc ccagggcacg ggccaacatg gaggcaggga ccatgagcca tttcccccagc	360
ctgccccaaa ggtttgggag aacaacagcc agacgcatac ccaagacact ggctggtttg	420
ccccagaaaat ccctgcactc cctggctcc agtgaatcgc tctatgccat gaccggccag	480
catcaagaaa ttcaagatcc tggtaagag caaccttagga aacgggtgtt cacggaaaca	540
gatgatgcag aaaggaaaca agaaaaata gaaacacctt agccagtcct tcaaggggct	600
atgaagctg	609

<210> 9

<211> 188

<212> PRT

<213> Mouse

<400> 9

Met Glu Ile Ile Ser Leu Lys Arg Phe Ile Leu Leu Thr Val Ala Thr

Ser Ser Phe Leu Thr Ser Asn Thr Phe Cys Thr Asp Glu Phe Met Met
20 25 30

Pro His Phe His Ser Lys Glu Gly Asp Gly Lys Tyr Ser Gln Leu Arg
35 40 45

Gly Ile Pro Lys Gly Glu Lys Glu Arg Ser Val Ser Phe Gln Glu Leu
50 55 60

Lys Asp Trp Gly Ala Lys Asn Val Ile Lys Met Ser Pro Ala Pro Ala
65 70 75 80

Asn Lys Val Pro His Ser Ala Ala Asn Leu Pro Leu Arg Phe Gly Arg
85 90 95

Thr Ile Asp Glu Lys Arg Ser Pro Ala Ala Arg Val Asn Met Glu Ala
100 105 110

Gly Thr Arg Ser His Phe Pro Ser Leu Pro Gln Arg Phe Gly Arg Thr
115 120 125

Thr Ala Arg Ser Pro Lys Thr Pro Ala Asp Leu Pro Gln Lys Pro Leu
130 135 140

His Ser Leu Gly Ser Ser Glu Leu Leu Tyr Val Met Ile Cys Gln His
145 150 155 160

Gln Glu Ile Gln Ser Pro Gly Gly Lys Arg Thr Arg Arg Gly Ala Phe
165 170 175

Val Glu Thr Asp Asp Ala Glu Arg Lys Pro Glu Lys
180 185

<210> 10

<211> 564

<212> DNA

<213> Mouse

<400> 10

atggaaatta tttcattaaa acgattcatt ttattgactg tggcaacttc aagcttctta 60

acatcaaaca ccttctgtac agatgagttc atgatgcctc attttcacag caaagaagg 120
 gacggaaaat actcccagct gagaggaatc ccaaaagggg aaaaggaaag aagtgtcagt 180
 tttcaagaac taaaagattg gggggcaaag aatgttatta agatgagtcc agccctgcc 240
 aacaaagtgc cccactcagc agccaacctg cccctgagat ttggaaggac catagatgag 300
 aaaagaagcc ccgcagcagc ggtcaacatg gaggcaggga ccaggagcca tttccccagc 360
 ctgccccaaa ggtttgggag aacaacagcc agaagcccc agacacccgc tgatttgcca 420
 cagaaacccc tgcactcact gggctccagc gagttgctct acgtcatgtat ctgccagcac 480
 caagaaattc agagtccctgg tggaaagcga acgaggagag gagcgttgtt ggaaacagat 540
 gatgcagaaaa ggaaaccaga aaaa 564

<210> 11

<211> 432

<212> PRT

<213> Rat

<400> 11

Met Glu Ala Glu Pro Ser Gln Pro Pro Asn Gly Ser Trp Pro Leu Gly

5 10 15

Gln Asn Gly Ser Asp Val Glu Thr Ser Met Ala Thr Ser Leu Thr Phe

20 25 30

Ser Ser Tyr Tyr Gln His Ser Ser Pro Val Ala Ala Met Phe Ile Ala

35 40 45

Ala Tyr Val Leu Ile Phe Leu Leu Cys Met Val Gly Asn Thr Leu Val

50 55 60

Cys Phe Ile Val Leu Lys Asn Arg His Met Arg Thr Val Thr Asn Met

65 70 75 80

Phe Ile Leu Asn Leu Ala Val Ser Asp Leu Leu Val Gly Ile Phe Cys

85 90 95

Met Pro Thr Thr Leu Val Asp Asn Leu Ile Thr Gly Trp Pro Phe Asp

100 105 110

Asn Ala Thr Cys Lys Met Ser Gly Leu Val Gln Gly Met Ser Val Ser
115 120 125
Ala Ser Val Phe Thr Leu Val Ala Ile Ala Val Glu Arg Phe Arg Cys
130 135 140
Ile Val His Pro Phe Arg Glu Lys Leu Thr Leu Arg Lys Ala Leu Phe
145 150 155 160
Thr Ile Ala Val Ile Trp Ala Leu Ala Leu Leu Ile Met Cys Pro Ser
165 170 175
Ala Val Thr Leu Thr Val Thr Arg Glu Glu His His Phe Met Leu Asp
180 185 190
Ala Arg Asn Arg Ser Tyr Pro Leu Tyr Ser Cys Trp Glu Ala Trp Pro
195 200 205
Glu Lys Gly Met Arg Lys Val Tyr Thr Ala Val Leu Phe Ala His Ile
210 215 220
Tyr Leu Val Pro Leu Ala Leu Ile Val Val Met Tyr Val Arg Ile Ala
225 230 235 240
Arg Lys Leu Cys Gln Ala Pro Gly Pro Ala Arg Asp Thr Glu Glu Ala
245 250 255
Val Ala Glu Gly Gly Arg Thr Ser Arg Arg Arg Ala Arg Val Val His
260 265 270
Met Leu Val Met Val Ala Leu Phe Phe Thr Leu Ser Trp Leu Pro Leu
275 280 285
Trp Val Leu Leu Leu Leu Ile Asp Tyr Gly Glu Leu Ser Glu Leu Gln
290 295 300
Leu His Leu Leu Ser Val Tyr Ala Phe Pro Leu Ala His Trp Leu Ala
305 310 315 320
Phe Phe His Ser Ser Ala Asn Pro Ile Ile Tyr Gly Tyr Phe Asn Glu
325 330 335

Asn Phe Arg Arg Gly Phe Gln Ala Ala Phe Arg Ala Gln Leu Cys Trp
 340 345 350
 Pro Pro Trp Ala Ala His Lys Gln Ala Tyr Ser Glu Arg Pro Asn Arg
 355 360 365
 Leu Leu Arg Arg Arg Val Val Val Asp Val Gln Pro Ser Asp Ser Gly
 370 375 380
 Leu Pro Ser Glu Ser Gly Pro Ser Ser Gly Val Pro Gly Pro Gly Arg
 385 390 395 400
 Leu Pro Leu Arg Asn Gly Arg Val Ala His Gln Asp Gly Pro Gly Glu
 405 410 415
 Gly Pro Gly Cys Asn His Met Pro Leu Thr Ile Pro Ala Trp Asn Ile
 420 425 430

<210> 12

<211> 1296

<212> DNA

<213> Rat

<400> 12

atggaggcgg	agccctccca	gcctcccaac	ggcagctggc	ccctgggtca	gaacgggagt	60
gatgtggaga	ccagcatggc	aaccagcctc	accttctcct	cctactacca	acactcctct	120
ccgggtggcag	ccatgttcat	cgcggcctac	gtgctcatct	tcctccctcg	catggtgggc	180
aacaccctgg	tctgcttcat	tgtgctcaag	aaccggcaca	tgcgcactgt	caccaacatg	240
tttatcctca	acctggccgt	cagcgacctg	ctgggtggca	tcttctgcat	gcccacaaacc	300
tttgtggaca	accttatac	tggtgtggct	tttgacaaacg	ccacatgcaa	gatgagcggc	360
tttgtgcagg	gcatgtccgt	gtctgcatcg	gttttcacac	tggtgccat	cgctgtggaa	420
aggttccgct	gcatcgtgca	ccctttccgc	gagaagctga	cccttcggaa	ggcgctgttc	480
accatcgccgg	tgatctggc	tctggcgctg	ctcatcatgt	gtccctcggc	ggtcactctg	540
acagtcaccc	gagaggagca	tcacttcatg	ctggatgctc	gtaaccgctc	ctacccgctc	600
tactcgtgct	gggaggcctg	gcccgagaag	ggcatgcgca	aggtctacac	cgcggtgctc	660

ttcgccaca tctacctggt gccgctggcg ctcatcgtag tgcgtacgt ggcacatcg	720
cgcaagctat gccaggcccc cggcctgcg cgacacgg aggaggcggt ggccgagggt	780
ggccgcactt cgccgcgtag ggccgcgtg gtgcacatgc tggcatggt ggccgtcttc	840
ttcacgttgt cctggctgcc actctgggtg ctgctgctgc tcacgacta tggggagctg	900
agcgagctgc aactgcacct gctgtcggtc tacggcttcc cttggcaca ctggctggcc	960
ttcttccaca gcagcgccaa ccccatcatc tacggctact tcaacgagaa ctccgccc	1020
ggcttccagg ctgccttcg tgacagctc tgctggcctc cctggccgc ccacaagcaa	1080
gcctactcgg agcggcccaa ccgcctcctg cgaggcggt tggtggtgga cgtgcaaccc	1140
agcgactccg gcctgcccattc agagtctggc cccagcagcg gggtcccagg gcctggccgg	1200
ctgccactgc gcaatggcg tgtggccat caggatggcc cggggaaagg gccaggctgc	1260
aaccacatgc ccctcaccat cccggcctgg aacatt	1296

<210> 13

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> the C-terminus of the polypeptide is amide (-CONH₂) form

<400> 13

Met Pro His Ser Phe Ala Asn Leu Pro Leu Arg Phe

1 5 10

<210> 14

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> the C-terminus of the polypeptide is amide (-CONH₂) form

<400> 14

Val Pro Asn Leu Pro Gln Arg Phe

1 5

<210> 15

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> the C-terminus of the polypeptide is amide (-CONH₂) form

<400> 15

Ser Ala Gly Ala Thr Ala Asn Leu Pro Leu Arg Ser

1 5 10

<210> 16

<211> 36

<212> DNA

<213> Human

<400> 16

atgccacact ccttcgccaa cttgccattt agattt

36

<210> 17

<211> 36

<212> DNA

<213> Human

<400> 17

agtgcgtggag caacagccaa cctgcctctg agatct

36

<210> 18

<211> 24

<212> DNA

<213> Human

<400> 18

gttcctaacc tgccccaaag gttt

24

<210> 19

<211> 276

<212> DNA

<213> Human

<400> 19

atggaaat tttcatcaa actattcatt ttattgactt tagccacttc aagcttgtta 60
acatcaaaca tttttgtgc agatgaatta gtgatgtcca atcttcacag caaagaaaat 120
tatgacaaat attctgagcc tagaggatac ccaaaaagggg aaagaagcct caattttag 180
gaattaaaag attggggacc aaaaaatgtt attaagatga gtacacctgc agtcaataaa 240
atgccacact ccttcgccaa cttgccattt agattt 276

<210> 20

<211> 336

<212> DNA

213 Human

<400> 20

atggaaat tttcatcaaa actattcatt ttattgactt tagccacttc aagcttgtta 60
acatcaaaca tttttgtgc agatgaatta gtgatgtcca atcttcacag caaagaaaat 120
tatgacaaat attctgagcc tagaggatac ccaaaaagggg aaagaagcct caatttttag 180
gaattaaaag attggggacc aaaaaatgtt attaagatga gtacacctgc agtcaataaa 240
atgccacact cttcgccaa ctgccattg agattggga ggaacgttca agaagaaaaga 300
agtgcgtggag caacagccaa cctgcctctg agatct 336

<210> 21

<211> 393

<212> DNA

<213> Human

<400> 21

```
atggaaatta tttcatcaaa actattcatt ttattgactt tagccacttc aagcttgtta 60  
acatcaaaca tttttgtgc agatgaatta gtgatgtcca atcttcacag caaagaaaaat 120
```

tatgacaaat attctgagcc tagaggatac ccaaaagggg aaagaagcct caatttttag 180
 gaattaaaag attggggacc aaaaaatgtt attaagatga gtacacctgc agtcaataaa 240
 atgccacact cttcgccaa cttgccattg agatttggga ggaacgttca agaagaaaaga 300
 agtgctggag caacagccaa cctgcctctg agatctgga agaaatatgga ggtgagccctc 360
 gtgagacgtg ttcctaacct gccccaaagg ttt 393

<210> 22

<211> 203

<212> PRT

<213> Rat

<400> 22

Met Glu Ile Ile Ser Ser Lys Arg Phe Ile Leu Leu Thr Leu Ala Thr

1 5 10 15

Ser Ser Phe Leu Thr Ser Asn Thr Leu Cys Ser Asp Glu Leu Met Met

20 25 30

Pro His Phe His Ser Lys Glu Gly Tyr Gly Lys Tyr Tyr Gln Leu Arg

35 40 45

Gly Ile Pro Lys Gly Val Lys Glu Arg Ser Val Thr Phe Gln Glu Leu

50 55 60

Lys Asp Trp Gly Ala Lys Lys Asp Ile Lys Met Ser Pro Ala Pro Ala

65 70 75 80

Asn Lys Val Pro His Ser Ala Ala Asn Leu Pro Leu Arg Phe Gly Arg

85 90 95

Asn Ile Glu Asp Arg Arg Ser Pro Arg Ala Arg Ala Asn Met Glu Ala

100 105 110

Gly Thr Met Ser His Phe Pro Ser Leu Pro Gln Arg Phe Gly Arg Thr

115 120 125

Thr Ala Arg Arg Ile Thr Lys Thr Leu Ala Gly Leu Pro Gln Lys Ser

130 135 140

Leu His Ser Leu Ala Ser Ser Glu Leu Leu Tyr Ala Met Thr Arg Gln
145 150 155 160
His Gln Glu Ile Gln Ser Pro Gly Gln Glu Gln Pro Arg Lys Arg Val
165 170 175
Phe Thr Glu Thr Asp Asp Ala Glu Arg Lys Gln Glu Lys Ile Gly Asn
180 185 190
Leu Gln Pro Val Leu Gln Gly Ala Met Lys Leu
195 200

<210> 23

<211> 609

<212> DNA

<213> Rat

<400> 23

atggaaattt tttcatcaaa gcgattcatt ttattgactt tagcaacttc aagcttctta 60
acttcaaaaca ccctttgttc agatgaatta atgatgcccc atttcacag caaagaagg 120
tatggaaaat attaccagct gagaggaatc ccaaaagggg taaaggaaag aagtgtcact 180
tttcaagaac tcaaagattt gggggcaaag aaagatatta agatgagtcc agcccctgcc 240
aacaaagtgc cccactcagc agccaacctt cccctgaggt ttgggaggaa catagaagac 300
agaagaagcc ccagggcactg ggccaacatg gaggcaggga ccatgagcca ttttcccagc 360
ctgccccaaa ggtttgggag aacaacagcc agacgcatac ccaagacact ggctggttt 420
ccccagaaaat ccctgcactc cctggctcc agtgaattgc tctatgccat gacccgccag 480
catcaagaaa ttcaagatcc tggtaagag caaccttagga aacgggtgtt cacggaaaca 540
gatgatgcag aaaggaaaca agaaaaata gaaacctcc agccagtcc tcaagggct 600
atgaagctg 609

<210> 24

<211> 430

<212> PRT

<213> Human

<400> 24

Met Glu Gly Glu Pro Ser Gln Pro Pro Asn Ser Ser Trp Pro Leu Ser
1 5 10 15
Gln Asn Gly Thr Asn Thr Glu Ala Thr Pro Ala Thr Asn Leu Thr Phe
20 25 30
Ser Ser Tyr Tyr Gln His Thr Ser Pro Val Ala Ala Met Phe Ile Val
35 40 45
Ala Tyr Ala Leu Ile Phe Leu Leu Cys Met Val Gly Asn Thr Leu Val
50 55 60
Cys Phe Ile Val Leu Lys Asn Arg His Met His Thr Val Thr Asn Met
65 70 75 80
Phe Ile Leu Asn Leu Ala Val Ser Asp Leu Leu Val Gly Ile Phe Cys
85 90 95
Met Pro Thr Thr Leu Val Asp Asn Leu Ile Thr Gly Trp Pro Phe Asp
100 105 110
Asn Ala Thr Cys Lys Met Ser Gly Leu Val Gln Gly Met Ser Val Ser
115 120 125
Ala Ser Val Phe Thr Leu Val Ala Ile Ala Val Glu Arg Phe Arg Cys
130 135 140
Ile Val His Pro Phe Arg Glu Lys Leu Thr Leu Arg Lys Ala Leu Val
145 150 155 160
Thr Ile Ala Val Ile Trp Ala Leu Ala Leu Leu Ile Met Cys Pro Ser
165 170 175
Ala Val Thr Leu Thr Val Thr Arg Glu Glu His His Phe Met Val Asp
180 185 190
Ala Arg Asn Arg Ser Tyr Pro Leu Tyr Ser Cys Trp Glu Ala Trp Pro
195 200 205
Glu Lys Gly Met Arg Arg Val Tyr Thr Val Leu Phe Ser His Ile

210 215 220
Tyr Leu Ala Pro Leu Ala Leu Ile Val Val Met Tyr Ala Arg Ile Ala
225 230 235 240
Arg Lys Leu Cys Gln Ala Pro Gly Pro Ala Pro Gly Gly Glu Ala
245 250 255
Ala Asp Pro Arg Ala Ser Arg Arg Arg Ala Arg Val Val His Met Leu
260 265 270
Val Met Val Ala Leu Phe Phe Thr Leu Ser Trp Leu Pro Leu Trp Ala
275 280 285
Leu Leu Leu Leu Ile Asp Tyr Gly Gln Leu Ser Ala Pro Gln Leu His
290 295 300
Leu Val Thr Val Tyr Ala Phe Pro Phe Ala His Trp Leu Ala Phe Phe
305 310 315 320
Asn Ser Ser Ala Asn Pro Ile Ile Tyr Gly Tyr Phe Asn Glu Asn Phe
325 330 335
Arg Arg Gly Phe Gln Ala Ala Phe Arg Ala Arg Leu Cys Pro Arg Pro
340 345 350
Ser Gly Ser His Lys Glu Ala Tyr Ser Glu Arg Pro Gly Gly Leu Leu
355 360 365
His Arg Arg Val Phe Val Val Val Arg Pro Ser Asp Ser Gly Leu Pro
370 375 380
Ser Glu Ser Gly Pro Ser Ser Gly Ala Pro Arg Pro Gly Arg Leu Pro
385 390 395 400
Leu Arg Asn Gly Arg Val Ala His His Gly Leu Pro Arg Glu Gly Pro
405 410 415
Gly Cys Ser His Leu Pro Leu Thr Ile Pro Ala Trp Asp Ile
420 425 430

<211> 1290

<212> DNA

<213> Human

<400> 25

atggaggggg agccctccca gcctcccaac agcagttggc ccctaagtca gaatgggact	60
aacactgagg ccaccccggc tacaaacctc accttctcct cctactatca gcacacctcc	120
cctgtggcgg ccatgttcat tgtggcctat gcgctcatct tcctgctctg catggtgggc	180
aacaccctgg tctgtttcat cgtgctcaag aaccggcaca tgcatactgt caccaacatg	240
ttcatcctca acctggctgt cagtgacctg ctggtggca tcttctgcat gcccaccacc	300
cttgtggaca acctcatcac tgggtggccc ttgcacaatg ccacatgcaa gatgagcggc	360
tttgtgcagg gcatgtctgt gtcggcttcc gtttcacac tggtggccat tgctgtggaa	420
aggttccgct gcatcgtgca cccttccgc gagaagctga ccctgcggaa ggcgctcgct	480
accatcgccg tcatctggc cctggcgctg ctcatcatgt gtccctcgcc cgtcacgctg	540
accgtcaccc gtgaggagca ccacttcatg gtggacgccc gcaaccgctc ctaccctctc	600
tactcctgct gggaggcctg gcccagaag ggcatgcga gggctacac cactgtgctc	660
ttctcgaca tctacctggc gccgctggcg ctcatcgtgg tcatgtacgc ccgcacatcg	720
cgcaagctct gccaaggcccc gggcccgccccc cccggggcg aggaggctgc ggacccgcga	780
gcatcgccgc gcagagcgcg cgtgggtgcac atgctggtca tggtggcgct gttcttcacg	840
ctgtccctggc tgccgctctg ggcgctgctg ctgctcatcg actacggca gtcagcg	900
ccgcagctgc acctggtcac cgtctacgcc ttccccttcg cgcaactggct ggcccttc	960
aacagcagcg ccaacccat catctacggc tacttcaacg agaacttccg ccgcggcttc	1020
caggccgcct tccgcgccccg cctctgccccg cggccgtcgg ggagccacaa ggaggcctac	1080
tccgagcgcc cggcgggcgt tctgcacagg cgggtcttcg tggtgggtgcg gcccagcgac	1140
tccgggctgc cctctgagtc gggcccttagc agtggggccc ccaggccccgg ccgcctcccg	1200
ctgcggaaatg ggccgggtggc tcaccacggc ttgcccaggg aaggccctgg ctgctcccac	1260
ctgcccctca ccattccagc ctggatatac	1290

<210> 26

<211> 1290

<212> DNA

<213> Human

<400> 26

atggaggggg agccctcca gcctccaaac agcagttggc ccctaagtca gaatgggact	60
aacactgagg ccacccggc tacaaacctc accttctcct cctactatca gcacacctcc	120
cctgtggcgg ccatgttcat tgtggcctat gcgctcatct tcctgctctg catggtggc	180
aacaccctgg tctgtttcat cgtgctcaag aaccggcaca tgcatactgt caccaacatg	240
ttcatcctca acctggctgt cagtgacctg ctgggtggca tcttctgcat gcccaccacc	300
cttgtggaca acctcatcac tgggtggccc ttgcacaatg ccacatgcaa gatgagcggc	360
tttgtgcagg gcatgtctgt gtcggcttcc gtttcacac tggtgccat tgctgtggaa	420
aggttccgct gcatcgtgca cccttccgc gagaagctga ccctcgaa ggcgctcg	480
accatcgccg tcatctggc cctggcgctg ctcatacatgt gtccctcgcc cgtaacgctg	540
accgtcaccc gtgaggagca ccacttcatg gtggacgccc gcaaccgctc ctacccgctc	600
tactcctgtt gggaggcctg gcccagaag ggcatacgca gggtctacac cactgtgctc	660
ttctcgaca tctacctggc gccgctggcg ctcatacgatgg tcatgtacgc ccgcatacg	720
cgcaagctct gccaggcccc gggccggcc cccggggcg aggaggctgc ggacccgcga	780
gcatacgccg gcagagcgcg cgtgggtcac atgctggtca tggtggcgct gttcttcacg	840
ctgtcctggc tgccgctctg ggcgctgctg ctgctcatcg actacggca gtcagcg	900
ccgcagctgc acctggtcac cgtctacgccc ttccccctcg cgcaactggct ggccttcttc	960
aacagcagcg ccaacccat catctacggc tacttcaacg agaacttccg cgcggcttc	1020
caggccgcct tccgcgcccc cctctgcccc cgcccgatgg ggagccacaa ggaggcctac	1080
tccgagcgcc cggcgggct tctgcacagg cgggtcttcg tggtggcg gcccagcgac	1140
tccggcgctgc cctctgagtc gggcccttagc agtggggccc ccaggccccg cgcctcccg	1200
ctgcggaatg ggcgggtggc tcaccacggc ttgcccaggg aaggccctgg ctgctccac	1260
ctgccccctca ccattccagc ctggatatac	1290

<210> 27

<211> 430

<212> PRT

<213> Mouse

<220>

<400> 27

Gly Glu Pro Ser Gln Pro Pro Asn Gly Ser Trp Pro Pro Ser Leu Arg
5 10 15
Glu Ser Asp Ala Glu Thr Ala Pro Val Ala Ser Leu Thr Phe Ser Ser
20 25 30
Tyr Tyr Gln His Ser Ser Pro Val Ala Ala Met Phe Ile Ala Ala Tyr
35 40 45
Ala Leu Ile Phe Leu Leu Cys Met Val Gly Asn Thr Leu Val Cys Phe
50 55 60
Ile Val Leu Lys Asn Arg His Met Arg Thr Val Thr Asn Met Phe Ile
65 70 75 80
Leu Asn Leu Ala Val Ser Asp Leu Leu Val Gly Ile Phe Cys Met Pro
85 90 95
Thr Thr Leu Val Asp Asn Leu Ile Thr Gly Trp Pro Phe Asp Asn Ala
100 105 110
Thr Cys Lys Met Ser Gly Leu Val Gln Gly Met Ser Val Ser Ala Ser
115 120 125
Val Phe Thr Leu Val Ala Ile Ala Val Glu Arg Phe Arg Cys Ile Val
130 135 140
His Pro Phe Arg Glu Lys Leu Thr Leu Arg Lys Ala Leu Leu Thr Ile
145 150 155 160
Ala Val Ile Trp Ala Leu Ala Leu Leu Ile Met Cys Pro Ser Ala Val
165 170 175
Thr Leu Thr Val Thr Arg Glu Glu His His Phe Met Leu Asp Ala Arg
180 185 190
Asn Arg Ser Tyr Pro Leu Tyr Ser Cys Trp Glu Ala Trp Pro Glu Lys

195	200	205
Gly Met Arg Lys Val Tyr Thr Ala Val Leu Phe Ala His Ile Tyr Leu		
210	215	220
Ala Pro Leu Ala Leu Ile Val Val Met Tyr Ala Arg Ile Ala Arg Lys		
225	230	235
Leu Cys Gln Ala Pro Gly Pro Ala Arg Asp Ala Glu Glu Ala Val Ala		240
245	250	255
Glu Gly Gly Arg Ala Ser Arg Arg Arg Ala Arg Val Val His Met Leu		
260	265	270
Val Met Val Ala Leu Phe Phe Thr Leu Ser Trp Leu Pro Leu Trp Val		
275	280	285
Leu Leu Leu Leu Ile Asp Tyr Gly Glu Leu Ser Glu Leu Gln Leu His		
290	295	300
Leu Leu Ser Val Tyr Ala Phe Pro Leu Ala His Trp Leu Ala Phe Phe		
305	310	315
His Ser Ser Ala Asn Pro Ile Ile Tyr Gly Tyr Phe Asn Glu Asn Phe		320
325	330	335
Arg Arg Gly Phe Gln Ala Ala Phe Arg Ala Gln Leu Cys Trp Leu Pro		
340	345	350
Trp Ala Ala His Lys Gln Ala Tyr Ser Glu Arg Pro Gly Arg Leu Leu		
355	360	365
Arg Arg Arg Val Val Val Asp Val Gln Pro Ser Asp Ser Gly Leu Pro		
370	375	380
Ser Glu Ser Gly Pro Ser Ser Gly Val Pro Gly Pro Asn Arg Leu Pro		
385	390	395
Leu Arg Asn Gly Arg Val Ala His Gln Asp Gly Pro Arg Glu Gly Pro		400
405	410	415
Gly Cys Asn His Met Pro Leu Thr Ile Pro Ala Trp Asn Ile		

420

425

430

<210> 28

<211> 16984

<212> DNA

<213> Mouse

<220>

<221> CDS

<222> (4706)..(5021)

<220>

<221> CDS

<222> (14061)..(14160)

<220>

<221> CDS

<222> (15476)..(16349)

<400> 28

caagttgccg ggcttggag gtgggaaaga gacaggggag tggcagttag tgagggtggga	60
gggagtgggt tttctttatt taaacgtgca cttgtgtgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgt	120
tgtgtgtat gtatatgtgt gtggagacgt gattaggata tgagtgaaga tcagagggca	180
gtctgtgtgt gggagtgggg tctccctcc taccacgttag gtcccaggga tcaaactcg	240
gtcatcaggc ttggtagaaag gcatcttacc tgctgagcca tctcgatgac ctggtttggc	300
ttggcggaaa ggtctcatgt agttcagggtt ggcctcaaacc tcaagatgtt accaagaatg	360
accttaaacc tctcatcctt ctgcctctgg agttctaggg gtatgggtgt accctagccc	420
ttggcttgca tggtgctggg gttggagcct gtggctttgt ggatgttaag tcaagctcct	480
atcagctgag ccccatctct agctcctgga ctgtgagttt aaaaaaaaaa aagtagaaaga	540
ctatTTaaaa aaaaaaaagat gcaaaactat ttttcagtga aaaggaatgt cggtcgacac	600
tcgcctcaga gcaactgagg aggaaagtca atggatgctg caggtggaca gacttcccgt	660
gggagtccctt ttaccattc catttctcat gtttcattaa actttataact tctgcatgt	720
ttcgccaaaa taatctctct tgcgtgcc cgatataata tatatattat tctattaaag	780

gtgtttgaat gctgttggag ctcttcaaag gcctgttgtt gggggagtac catcatctct 840
cagctcccttc tctatcagta gaccctcat cccgccacac cctcctacag cccccactgg 900
ctcctgcagc ccctaattgcc gctagtgcag tagcctgctg ccccaagggtgt ctgtctccag 960
ccctccctgtg tgtgcactgc gcctcgctcg ctcatttggc ttgcattgtgt ctgggggttgg 1020
agcctgtggc ttgtgtggat ttaagtcaag ctccatcag ctgagccccca tctctagctc 1080
ctggactgtg agttaaaaaaa aaaaaaaagta gaagactatt taaaaaaaaaa aagatgcaaa 1140
actattttc agtgaaaagg aatgtcggt gacactcgct tcagagcaac tgaggaggaa 1200
agtcaatgga tgctgcaggt ggacagactt cccgtgggag tccttttac cattccattt 1260
ctcatggttc attaaacttt atacctctgc atgtgttgc caaaataatc tctcttgcac 1320
gtgcccggat atatatatat attattctat taaaggttt tgaatgctgt tggagctctt 1380
gaaaggcctg tgtgtgggg agtaccatca tctctcagct ccttctctat cagtagaccc 1440
ctcatcccgcc cacaccctcc tacagcccc actggctcct gcagccccca tgccgctagt 1500
gcagtagcct gctgccccag gtgtctgtct ccagccctcc tgtgtgtca ctgcgcctcg 1560
ctcgctcata gccagtggct gagcgctggg ctccacagaa agactccccca gggccacttc 1620
atccctccaga atggggccccca tccagccccca gagggaaagac atgagggaa cttttaagac 1680
aacaccatga ctcaccacccg ctaatgactt cccagaagag ttatgattgg acactggact 1740
gctccctccg aaagaagact agggaaacac acactcagcc tgctgtaat gagaacatg 1800
tggacagggc acttccata gatactgcag gggcaggtaa acccagattt gtattcctgc 1860
cagcaggggg tgcaaagaga aagaataggt tgctatgggt gcttggagt tctagaagca 1920
tgggctagag tgtcttgctt tgttttctt tcctttcctt ttctttctt ttctttcttt 1980
ctttctctct ttctgtcttt aaaacttatt tatttaatgt atgtgagtac actgttagctg 2040
tacccttcat gtgggtgttgg ggaattgaat tttaggacct ctgctcactc cagtcagccc 2100
tgctcgctca ggacaaaaga ttatatttattt attatacata agtacactgt agctgacttc 2160
agacacacca ggagagggcg tcagatctca ttatgggtgg ttgtgagcca ccatgtggtt 2220
gctgggactt gaactcagga cctctgggag agcagtcagt gctcttaccc gctgagccat 2280
ctcgccagcc ccttgcttca tttttctatt gctataacaa atatccaaga ttgagtagtt 2340
tataagaagt cccaaagcat ggcccttctg ttcaggccct gtttcctgca ttctaaacatg 2400
gtgagggcat cgtgtggcca actagaacaa gcacgtggcc tggcagagag gcctcgccca 2460

tcgagtgcac ttgctcttg tggatgga agtggttcca ttagaggca tggccttgtt 2520
ggaggaagtg tgtcactgtg taggaggcgtt taggagggttc ctagtgcata agtgcataccc 2580
agtgcagaac actcagtcac tcctgggtgt cctatgatca agatctagaa ctctcagcgtt 2640
cttctgcagc actgtgtctg tctgcattgt gccaggcttc ttgctatgtat gataatggac 2700
tgaacctctg aaactgtaag ccagccccaa ttaaatgttt gccttgtta gagtagcctt 2760
ggtcatggtg cctgttaca gcaatagaaaa ccttaactaa gacacagttc ttgaagagga 2820
tggagttcct agcacccatg gccagcaact caccataact cttgttccag ggaatctgg 2880
gccctcttctt ggcctttaag tgtatacaca cacaccacac acacacacac accacacaca 2940
cacacacaca cacacacaca tacacaccac acacacacac acacaccaca gagagagaga 3000
agcacaatag ctcaggattc ttcttatgtt atcacaatg atgtcacagg agctccacca 3060
tgtaacttcc tataaatcta actctcttgc attttataaa tttactatat gtgggtgtt 3120
gtcagatctt ggattacaga cagtcatgac ctgcattgtt gatgctggta attgaacccg 3180
gattgctgag ccatctctcc tgctccctaa ctcactctca gaagccgcag ttccaaatac 3240
cttgcacaca tgctttgagg gaattaaagt gtctagacat gagggtacat tgaaggcaca 3300
ataaggactc actctacagg acaagagctg tgtctgctaa cagtaactgtt cccaggcagg 3360
aaggagcca ggaagcaaaa actgactcct ctcttgcttc ccacccatt tagggcttcc 3420
cattgactga gtctaaccag aagctggcag gatgggtcc tttagaaagt agactcttgg 3480
gcccggggc atagctcagt tggtagtata cttgcctaac atgcacaaag ctccaggttc 3540
tatcacatac agtgcacagg ttgacacact tcatttcagc actcagggtt tagaggcagg 3600
aggtaagag ttcaaggccaa tccttagcta aagtggtagt ttcaaggccaa gcctgatatg 3660
gaagaccttgc tcacccaaaga agtcttctga gacccaaaag atgacatgaa gcacaggag 3720
aagggtggta tggagactag ccaatgtt gttggatgtt gggccagca cattgggtgtt 3780
gagggttggg caaactcaaa agtccctgtt cagaggacgg agggtggta aatggtcaag 3840
aatgcttggtt ctccagagg accctgatct ggctccttagc accctcattt tgacccacaa 3900
aacatccata actctagttc tagggcactc agcacacaca ccatgcacat acacgtgtgc 3960
aggcaaaaaca ttcaaaaatc taaaattaa aaaataaaaat aaaataaaaat tcttgacagt 4020
gtgcccagtt gtccttgaga cagtgacag taataagtgg gcttaggtt tatgtgttgg 4080
tttgatatg ctgcatacaga gagtagcact attaggaggt gtggcttgc 4140

gtgtcactgt gggtgtgagc ttaagagcct catcctagct cccttggaaagc cagtcttc 4200
ctagcagtct tcagatgaag atgcagaact ctcagctcct cctacaccat gtctgcctgg 4260
atgctgctat gctcccacct tgatgataat ggattgaacc tctgaacctg tcagccagac 4320
ccaattaaat gttgtccttg ataagatttgc cttggcat ggtatctgtt cacagtggta 4380
aaaccctaac taagacagta tgacacatga gacacaaaaa aacttggaaacc ctttctttct 4440
tttcttgca agcgtcaatt ggctgaagtt ggcctaaaac tctctaagta gatgagtgtc 4500
cttgactcca ctttcgaaag tgcttggct aaaggcatgt accatgatac tgctttatgt 4560
ggtaactgggg tatcaaccca tagccttact catgttaggc aagcactctg agctgcattcc 4620
ccatccaagg gttggcttt tagtggtaa aagcccgta actcttcttc gcttggtcc 4680
tgactcttgt gctcccttca ctccagcggg acccctccag cttcccaacg gcagctggcc 4740
cccgagtctg cgagagatgt atgctgaaac cggccgggtg gccagcctca cttctcttc 4800
ctactaccag cactccttc cggtgccgc catgttcatc gccgcctacg cgctcatctt 4860
cctccctgc atggtggca acaccctggt ctgcttcatc gtgcttaaga accggcacat 4920
gcccactgtc accaacatgt tcatcctcaa cctggccgtc agcgacactgc tggtggcat 4980
cttctgcatg cccacaaccc tcgtggacaa ctttatcacc ggtgagttatg accaagggc 5040
agcaggaagg ccctttcac cttcgcttc gttccactt tccagctaaa gactgacgcg 5100
gaagccggga agacagagat cactgagcct cacagacaag gggcccggtg tctcaaactc 5160
tgacagagag gtgaataaga ataaccaacc taatgggcta atcagtgcc ggcatgatgt 5220
atgatttcta agttatctta attaattccct agaataagcc aaccaagcat gctttgttat 5280
ttagcctcat ttacggatg aggaatcaag ctcagagcag ttaagggct gatctgtat 5340
tatttacctt gtcagtgtca gggccagtgt gtcataccct ctgtgtctat tcatatctcc 5400
tttggccaca cccttggaga gagttcccat ggacagaatt agacagggga ggagtaggag 5460
gtggcaact ttcttctgca cgaagacactg gaaatccact cctgccatcc atccctccat 5520
agaagatgtc ttgtcctgc aggtctttagt ctcccattgg ctggaagact caggagtagg 5580
gactggctga ccgatgagct gggactgggt aagaggctt taaatggaaag tagaccatca 5640
cctgcaaagt cccacagttg tcagaatgtc acacactcat ctctgtatgat aaacctgtct 5700
tgtcttaaca tcagagtttgc gagactcaag ctgtggagac cttcagggtc taagggggaa 5760
gatccctgg ctacttgggg ttactcagct gttccttaggg agtccttctt ggtctgcgtc 5820

ccctcttat agtggctctg atgacgcagg cccagggagg ggaagcctga gggtgtgcag 5880
gttcctggat cctaaaggga aatgatggag agtcttctgg ctgtatgccc ggtggagact 5940
tgccctctg ttgagttctg atccccgcag agatgccaaa cacaaaccgt acaaccctt 6000
tccagcaccc gcagacagtc tagatctaga tctggcctac aagtctccaa agggtattta 6060
cagtataatc atttatgtga cattttcaaa ggccaaatcg tattttctgt cccctgagat 6120
agcaaattga cagattcaag agatggaggg tgggtccggt aatgaaggac cgagtggaaag 6180
cttcctggag tgatgcaata tttctgtatc ttgatggacg ctgcctggct gcatgtgtgc 6240
cttaaacctg tgcacctgta tgccaaaaac agtggggctc attgtttgtc gaaaatagtt 6300
ccagtgtgaa acatgcccac atgttagtcc atttccatgg ttggatatac atgatgggtg 6360
tcaagatggc tgagcaggtg agtgaactggt tggtcccaa gtctcttcc ccgagcccca 6420
taaagttagaa ggagaaggcc tactcctgca agttgtcctc tgacctctgt gcatgtatgc 6480
atgtgcacac gagtgcaactc acacacacac acacacacac aaatacacat gtgtatgtgt 6540
gcatgcacac acatcaaatg tgatttttt ttaaaaaaaaa gagaaggct agagagatgg 6600
ctcaggggtt aaagagatgg cccagtggtt agagagatgg cccagtggtt agagagatgg 6660
ctcagtggtt agagagatgg cccagtggtt agagagatgg cccagtggtt agagagatgg 6720
cccagtggtt agagagacag cccagtggtt agagagatgg ccaagtggtt acgagtgtgt 6780
acggctcaact agacgcactc tcagtcacca cgctggtag cctacagatg actagctcca 6840
gttcaggaga tccaacacct ctittcacgtg cacctgtgtt catgtgcaca cacctaaaca 6900
cagagatgca gatttacaca tatagaaata cactaaaaat aaggtaatc tttttttaaa 6960
aagtcatgtg gcctcctaga agaacaactc tgtggctgta agggagtctt tgggttagg 7020
tacttttaa atgggagtgt ttgcctattc tagtatgcat gtatgtatgt gtgtatatat 7080
ttattgtta tggatgtt tttatgtt ttatgtt ttttgagac agtttctct 7140
gtatagacct caagcttagct ctgcagtctt gaactcagag atctggctgc ctctgcctcc 7200
tgagtgcgtt gattaaaggc gtggaccacc actgctctgc tattttaaa actttttatc 7260
ttattttatg tgcatggaca ttttgcttaa tgtatacatg tgccacccat gcgtctctgg 7320
tgccctgcaga gacttgaggg gggcatcaga ttccctcaaa ctggagttgt agatggttct 7380
gagtcactga tgcttaggaac caaacacagg tcctctgcaa gatcaacaag agctcttggc 7440
cacggagcca tctccccagc cccttggaaac aatgttagac ttaaagtaaa atagcgaagc 7500

tagcatagaa	tccttggcat	atgctttgct	ctccctcccc	aacaatcata	atagagtaaa	7560
tacctggaga	aagcttcccg	tgtgttgata	actcatcagg	gttgggttgt	cttttggttt	7620
ttggtttgt	ttgttttgtt	ctattttaaa	tttcactagt	gtcccctaaa	tgtcattttc	7680
taggagttt	aaccataatt	ccaagaaaca	caactgaaat	gctcaaatct	tgaatggtgg	7740
agccagggtgt	gataatctga	atgaactcaa	gaggccagcc	tgggggttat	gcagtgaaac	7800
tgaatctcaa	acagaaaaca	agcatcaatc	acaagggtcat	gacaataaca	gcaatggAAC	7860
aggccacttc	agaggctgct	ttaactataa	agtaggcgac	aatagcttgt	attgctgcaa	7920
gcataaacac	tcaggtactc	aatgatatg	tgtgtgagac	gatcacagg	ctgaacggtg	7980
cattactgtt	cataatgggt	ctaaagtgaa	ggttgggaat	tgtatgcatt	ccactttaga	8040
actgtggatt	cctggattgc	catggatgtc	ttggtcattt	tttcatgct	ctgaagaggc	8100
actgtgacta	agggcactct	tatgaaagaa	agtatgtaat	tggcTTTgc	ttacagtttc	8160
agaggttagt	ccattgtcat	ggtgaccgaa	ggcagggcag	cacagaagtc	agtaagatct	8220
gcatcctgac	ataggcagag	agaggagaat	tggcCTGTC	ataggctttt	taaaacctca	8280
gagcccactc	cagtgactca	cttcctccaa	caaagccatg	cctcctaatc	cttctaattcc	8340
tttcaaaggg	tcccatgctc	aggtgactaa	gcattccat	agatgagctt	ctggggccat	8400
tctttttctt	ggggggaggg	ggttttgaga	caggTTTct	ctgtgttagcc	ctggTTgtca	8460
ctctttttt	tttaaattaa	tttattttatt	tcatgtatgt	gagtacattt	ttgctgtctt	8520
cagacacatt	agaagagggt	attgaatccc	cattacagat	ggttgtgagc	caccatgtgg	8580
ttgcagggaa	ttgaactcag	gacctcaaga	agaacagtca	gtgctttaa	tcgctgagcc	8640
atctctccag	tccctggAAC	tcactttgt	gaccaagctg	acctcaaact	cagaaatccg	8700
cctgcttctg	cctcccaagt	gctgggatta	aaggcgtgct	ccaccactgc	ccagctctgg	8760
gggggtcgTT	cttattcaaa	ccaccacact	ggcagaaaaac	tcaaattttt	tggggctag	8820
ggtgactgtc	agatattacc	ctgtggttca	agcaagtctg	gaattggcta	tgcaaccagg	8880
ctagcctggc	atgtgtgatt	cttctcgcaa	ctctgtcttc	tgagccctgt	ggtgccagct	8940
gtgttctagc	tcatctgatt	cttaagacgt	ttgggtggct	ccacccaaac	ctttgatagg	9000
tcacttctat	atagagttat	agacagtggc	cctggggaa	gattttgaga	aattttgttt	9060
cccgtaaatg	cagacatcaa	aaagatatca	ctaaattttt	tttattttatt	tatTTatttta	9120
tttattttattt	tattttttta	tttattttac	agacacagat	aaagtcaagt	tggcaacagt	9180

gcacacactc ttggagccag atttacaaaa gaagatacat aaatcagaac tctctgaaag 9240
tccgtgtata gtttatattt ccagtattca aaatggtggt gaaaagtcaa atatccagca 9300
ttaagaaaaat cttaactttgg gggggggca agaaaaaaaaa aagaggaagg aaattgggct 9360
ggcttaggtct ggagagatgg agatggctca gcagctaaga attaagattc cttgcagag 9420
gagccatgtt caatccccac atggcgatgt gttcaatttc acccatggat cacaacctgt 9480
taacggtttc tagctccttc ttctgtccac tgcaggtact acatgcacat ggtacacata 9540
catgcaggca aaacactcat aactaaatat agatttttt aaaaagggtt gataatgtaa 9600
aaatagttag aaggtttaa aactaaaaaa aaagcaaaaa gtttaacat atgaaaatat 9660
aaaaaaagtgg tacttcaggg ttatatttga agcagccaca cagaggtcat gcctaaggc 9720
tggcaagccc cgccatcatc aaccatctgc tgactgtctt ggagtgcagt aaacagttag 9780
aggcagatct tcctcgattt tccagcagcc actccatttt tgtttctcnn nnnnnnnnnn 9840
nnnnnncccc ccccccccccc ccccccccccc cnnnnnnnnn nnnnnnnnnn ngtgctggga 9900
attccagtagc ctctgggtga gtagccagtg ctcttaacca ctgagccacc tctctagctc 9960
cccttatttt caggtttaa aatgacattt tattcttgc ctcttctctc tctctctc 10020
tctctctctc tctctctctc tctttctctc tctctcctct ctctctctct ctgtgtctgt 10080
atgtgtgtgt atctgttact ttgtggggca taggaatgca tgtagctaa catacatgta 10140
gaagttagag gacagcttat ggcgcstatgc agtatacgatt ctcttctgct atgtgggtct 10200
tggatttagc tttaggcttgt gacaagagct gaccttgacc gccttgggtgt agcctagagt 10260
gaacttgaac tcctccaccc ctggattatg gtaattacag gcccattgccc taacgttccac 10320
tctcacgcat gttctgtgt ataggtcttc ctgcgccttac ccactcaggc tcacagtctc 10380
tcctgaagat atccttactg tcacaaccaa aacaatgtct ttccaggttc ccaggtgctc 10440
tgccttcctg acgtggatac aggtctcctg ggacagcctg gggcacactg atactccttc 10500
cctggagcct tccatggaat tigaagcttt cggcttttgtt ttttagggtt tgatattta 10560
ggagtttggt acttgcgaaa cgttgctttg gggagcttag actcaatctt tctgggttcc 10620
tggattctga cttagaaccac ttgtctcacc caatgtcaga cctaggtat ctagctgatt 10680
ttaatttattt ctttccttct ttctggaccc cagtgcattt gattagaatt aggcttcaac 10740
catactttat cattaaacta cattctcagc catatgtatg tgtgtataca cacacacaca 10800
cacatatat ttttttttg aggctggcga gatagctcag tggtaagag catgtgctgc 10860

tcttcagag gacccatgtt tggttcctag atcccacacg atggcccaca ctatcagtga 10920
actcagttgc agaggttctc aagtcccttc cagcgccgag ggctccaggc atgcatacgag 10980
tgcacacatg caggcaaaaca ctcatacaca taaaataaaa tataaaaaaac cttattaact 11040
taactcatgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg tgccgcgtg cgcacgcgt a tgcgtggtgt 11100
attttagtgt ttatatgttc accatacatg tgttagtgcc tgtgaaggc agaatcaa at 11160
cccatagtc tggacttatt acaggtggtt gtgagctgct gttgtggatg ctgagagttg 11220
aatcccactc ctctgcagga gcaacaagtgc ctcttaacca ctgagccatc tctccaaccc 11280
cttggctct tttttagttt tttttcttt gat tttttga gacagggtct ctctgtgttag 11340
cctggctgtc ctggaaactca cttttagac caggctggcc tcaaactcag gaaatccacc 11400
tgccctgtcc tcccaagggtgc tgggattaaa ggcgtgcacc accatgccc gctctttttt 11460
tgat ttttattttt ttgtgtgtgg atgcttatgc acgcacacat tc atgc atgc atgtatacat 11520
tttttcatg tatgtgtgag tgtatgcata ggtgcggagg cctgagggtt acatctccctg 11580
ctttagcccc ttagtgcgtg ggatgacaag tctgtgc tccagggccagc tcaccgaatg 11640
gtttcccttag ctctctccaa tcagccctag gtgccaggc atgacatcac atgttttagaa 11700
gctgctcttc cattatttgc aatatgagca tttttgtt tttctctgtat gccaggaccc 11760
gcactttggc cctggatcc ttgactaagg atgcctcgat attagggcat ctgtaaagca 11820
acctcttccc ctttcttta aaggacagat gttcgtacag taaagctggg atcagggttgg 11880
gttctcttagc actacggatg cagagcagaa cctcaggag atgctttt gatccagcac 11940
tggagggtgt gtgtggaaact tgtctcagac ggaggcctc acgggtgagc agtctcaggc 12000
tgtaaacatc ctaaacatcc aggaaggagt tgctgtctt ttcatcatt ggtcagtcc 12060
tcataaaacac tctggAACCA agcctagtgg cactcacgtt aaatccttagc acttggagg 12120
cagaggcaag cagatctcta agtctgaggc cagcctggc tccagagtga gttccaggat 12180
agccagggct acacagagaa accctgtctc aaaaaaaaaaaa aaaacacaac aaaaaaaaaa 12240
agggggggat catattctga ttctgtggaa atgtgctggc attccttgc agcctggcca 12300
atatgacatg gctttccaa tgtctgttag gtccaaagctt tggaggcctc acatggctat 12360
gcccatgttag gcaatattca ttactcaga acttcactcc ctcccggtcg tcctctgctc 12420
cctacacccctt gattagattc agttgagccaa ttgagggacg tcctctgctc cctacaccc 12480
gattagattc agttgagccaa ttgagggaga gcagcatgga tccgtggca aggcacagat 12540

gagagccgag ccttttgc tc gattgcttag gtaactgctg tctctaggct gtgaagccag 12600
cacttcccccc tt tttctaatta tgaagtaccc tacggggta tcctctgaga ccatgcaa at 12660
gtcatggctc gttatatttt tgtaccgact tcatacggtt gccacccaca acactgcttc 12720
tcatcctgtt ccctcttaat gacattcaca tcctctgtat ttactaattt gctctctgct 12780
tcctggcgtt taatccaaca tgattgtttt ttttgttgc taaactgctc taggtctggc 12840
aattgcaatt ggaagctcac agccgctggc ttctgtgtcc ttcccata cagccatcat 12900
gttggagta ttcccttcct ttttcattcc acagaatgtt cttagatcatc tcacaatttt 12960
cttacaccag ccctggaatt aactagtctt tttaaaagcc ttgttccctt tgattggcct 13020
gcactatttta gttctatattt atgcgcattgc gaattctact cgcatgcctg gtgcccacag 13080
aggcagaag agggcatcag agctcctgga gctagagagt tatggatgtt gaaagccacc 13140
atacggatgc tggggactga accagagtcc tctgcaagag caaccagttg tcttagctgc 13200
tgagccatct ccacaggcca aggagtagag tatttacaag caaaggctcg acttcctgag 13260
ggtgcttatac agggtagag tggcttgatt cttagactctg aaggacaga gctgggacat 13320
gcatgcaa at tgccatagag ttcttgcaca catgtcttt gttgttgtt tgagacagg 13380
gtctcacatg tagccttggt ttccctggaa ctcactatgt aaccaggct gacctgaaac 13440
tcaacagaga tctgtcttcc tctgtttccc aaatgctgag attaaagaca tgtatcacca 13500
cacccagctc cgtcttcgct cctgtgtctg gccatgtgcc tgtatttcag aaactgtgct 13560
ccatactaat acttcagatt ccaatccagt ctcagaaaat gtattttagc tcctccctt 13620
ttttagctt tcttctcagt gagaacaaaa atctttgtt atccacagcc tgtttattta 13680
tctgtttgggt ccacttcagt atacaggtgt gataataata tatacgctgt ggatatgtga 13740
taatgatgat tggtaataa cagagctact tcgaggaagg aacggctcc ctccctggct 13800
ggataatagg ctccagacat caggcaggc tagatgacct gaaggcatt gacacaatca 13860
gctgtcaact aaaggccatc ttccctaaaag tagtgttac acgctgggt gctcctcggt 13920
cacagtcaca gagacctcac aagccctcac agcacgagga tcaatgagcg gtgttccag 13980
gagacatgg ttatatggca ggtgctatgc attttgttga ttaggcattct ctcaccctgt 14040
gggggcctct gtcgttacag gttggccttt tgacaatgcc acatgcaaga tgagcggctt 14100
ggtacaggc atgtccgtgt ctgcgtcggt tttcacactg gtggccattg ccgtggagag 14160
gtgagaacct tccttggta attctggac tggcacgctg ggactagcta gatggttgt 14220

gggagagatc gggttggaaat accaccccat ccctttctgg gaggcagagg ccactcctga 14280
caagatctca tagcaatttc tgggtctgc tcaaggcagt ctgcattcctg ggtaccagga 14340
gtcccacctc tcctttgttt gagcccgaaa agccagagct agaggaggct gtctgcagat 14400
gggcttggca tagctggaa ggaccgaccc tttttgtttc tatattctat ctacttgctg 14460
gtgtctggaa gccctggctt tactccgtct gcatgtctgt cgcttctgggt catccannnn 14520
nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnncc cccccccccc ccccnnnnnn 14580
nnnnnnnnnnn tgccttagtcc ggcttcctaa gcacagagt tttatcacag actnnnnnnn 14640
nngggctgtg atgcccgccta ctgaataaaa gaaaaaggaa taaaggaaag cccatgactg 14700
ctccctggat atggtggagg agaaagctta ttatagatat gtgggtgaga acggccagag 14760
gcagggacat ctccagagag tccagagtgg tcctgatcct gaacctcggt gggagagggg 14820
gagggggagg gagagcggga aaccaaagggt cagcagccat gaggccaaag gtgcaaaagg 14880
aagtgggagg tagcccaaaa tgtctaggct atataggag gaggctctgt gggaaaggca 14940
gcccagtgtc tgggctggag agttcagggt agagggtggg gtaggtcagc tataccagt 15000
aacaggttagc aaccgaggga tgctggaga acctaaaggc caggtccgct ttgatatgg 15060
aaataggaac ctcagtggcc agtcctgggt tgaaccctta gtactgccag ctaatctgtt 15120
ttaaaataaa gatctaagcc tctggagaga ggttgttccct tcctcatcta ttccactaaa 15180
tccacctaataa gccataacaa tttagccggta ctgtgctgcc tccttcgcaa aagacaaacc 15240
aatttacttg taaattaacc tgatttagtgc cgaagcagtt ctcgggtgct gcctaagtgc 15300
agtgtatgaat gtttggatc gtattccagt agcatccgaa actgcctcaa gtagggtgat 15360
gaatgtcacg tgtcctcttc cagtgccccc tagtcaggc atctctggcc cgctggccct 15420
ccagggatcc tcccagacac ttactctgtt tctttccca cccctcgcc tgcaggttcc 15480
gctgcacatcgt acaccctttc cgtgagaagc tgaccctccg gaaggcgctg ctcaccatag 15540
cggtgatctg ggctgtggcg ctgctcatca tgtgtccctc ggctggcact ctgaccgtca 15600
cgcgagagga gcatcacttc atgctggatg ctcgcacccg ctcctaccct ctctactcgt 15660
gctggggaggc ctggcccgag aaggcatgc gcaaggtcta caccggcggtg ctcttcgcgc 15720
acatctatct ggccgcgtcg cgctcatcg tggtgatgta cgccgcacgc ggcgcgaac 15780
tgtgccaggc ccccggtcca gcgccgcacg cggaggaggc ggtggccgag ggtggccgc 15840
cgctcgccgc cagggccgcgtc tggtgcata tgctggatc ggtggcgctc ttcttcaccc 15900

tgtcctggct gccactctgg gtgctgctgc tgctcatcga ctacggggag ctgagcgagc 15960
tgcagctgca cttgctgtcc gtctacgcct tcccgttggc acactggctg gccttcttcc 16020
acagcagcgc caacccatt atctacggct acttcaacga gaacttccgc cgccggcttcc 16080
aggctgcctt ccgggcacag ctctgctggc ttccctggc cgcccacaag caagcctact 16140
ccgagcggcc tggccgcctc ctgcgcaggc gggtggttgt ggacgtgcaa cccagcgaact 16200
cagggctgcc atcggagtct ggccccagca gtggggtccc agggcctaac cggctgccat 16260
tgcgcaatgg gcgtgtggcc caccaggatg gcccgaggga agggcctggc tgcaaccaca 16320
tgcccctcac tatcccagcc tggAACATT gaggtggtcc agagaggaa cgtcctgttag 16380
gcctgtggcc ctgaccctta actatgatgc ctggcaca tagcagtatt agaagagggt 16440
gccgagatgc ctcTTgata aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa cgagacagtg 16500
aggcattgag acccagggag aggtgacaag gtctcacgt tggAAATCCT acttgaccct 16560
gactccagta agtctccccca ggAAAATGT tcacttaggtg gttAGGAAGA ggtgaccact 16620
tctacacact gaggcacctgt gaccgagtcc cctgtgctgt gttgctgaga gagctcccct 16680
tggcccttc ctggaaaca tccaagctct ccgcttgcca gggccagtgt ttgagttgtt 16740
ttattccagg aagtGCCATA cccacttcag catgtcacaa ctgagcagct ccaAGAAAGAA 16800
ccctaggag cccattaaa tggcactggg ttgagcctaa gggagactcc ccccccccc 16860
cccagagCCA agcagagctt ccaacagtac caagagctca tgggtggcag gcaAGGGGAA 16920
aaggaagaca gcaatGCCAA ctctccccctc aggAAATATC tttagtggcc agtgagcatg 16980
aacc 16984

<210> 29

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<400> 29

aggtgctcag tgttagaag tgg 23

<210> 30

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<400> 30

atcccagcct ggaacatttt gagg 24

<210> 31

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<400> 31

tcatagccga atacggtctc cac 23

<210> 32

<211> 17833

<212> DNA

<213> Mouse

<220>

<221> CDS

<222> (4706)..(5021)

<220>

<221> CDS

<222> (14106)..(14205)

<220>

<221> CDS

<222> (16325)..(17198)

<400> 32

caagtgcgg ggcgtgggag gtggggaga gacaggggag tggcagttag tgagggtggaa 60

gggagtgggt tttctttatt taaacgtgca cttgtgttg tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg 120

tgtgtgtat gtatatgtgt gtggagacgt gattaggata tgagtgaaga tcagagggca	180
gtctgtgtgt gggagtgggg tcttcctcc taccacgtag gtcccaggaa tcaaactcgg	240
gtcatcaggc ttggtagaaag gcacatttacc tgctgagcca tctcgatgac ctggtttgc	300
ttggcggaaa ggtctcatgt agttcagggtt ggcctcaaacc tcagtatgtc accaagaatg	360
accttaaacc tctcatcctt ctgcctctgg agttcttaggg gtatgggtgt accctagccc	420
ttggcttgca tggtgctggg gttggagcct gtggctttgt ggatgttaag tcaagctcct	480
atcagctgag ccccatctct agtcctgga ctgtgagttt aaaaaaaaaa aagttagaaga	540
ctataaaaa aaaaaaaagat gcaaaactat ttttcagtga aaaggaatgt cggctgacac	600
tcgcttcaga gcaactgagg aggaaagtca atggatgctg caggtggaca gacttcccgt	660
gggagtcctt tttaccattc catttctcat ggttcattaa actttatact tctgcattgt	720
ttcgccaaaa taatctctct tgtacgtgcc cggttatata tatattattat tctattaaag	780
gtgtttgaat gctgttggag ctcttggaaag gcctgtgtgt gggggaggtac catcatctct	840
cagctccttc tctatcaga gaccctcat cccgccacac cctccctacag cccccactgg	900
ctccctgcagc ccctaattgcc gctagtgcag tagcctgctg ccccagggtgt ctgtctccag	960
ccctcctgtg tgtgcactgc gcctcgctcg ctcatttggc ttgcattgtg ctgggggttgg	1020
agcctgtggc tttgtggatg ttaagtcaag ctcctatcag ctgagccccca tctctagctc	1080
ctggactgtg agttaaaaaa aaaaaaaagta gaagactatt taaaaaaaaa aagatgcaaa	1140
actattttc agtggaaaagg aatgtcggt gacactcgct tcagagcaac tgaggaggaa	1200
agtcaatggc tgctgcagggt ggacagactt cccgtggag tccttttac cattccattt	1260
ctcatggttc attaaacttt atacttctgc atgtgttcgc caaaataatc tctcttgc	1320
gtgcccggat atatatatat attattctat taaaggtgt tgaatgtgt tggagctt	1380
gaaaggcctg tgtgtggggg agtaccatca tctctcagct ccttctctat cagtagaccc	1440
ctcatccgc cacaccctcc tacagcccccc actggctcct gcagcccccta tgccgctagt	1500
cgagtagcct gctgccccag gtgtctgtct ccagccctcc tgtgtgtgca ctgcgcctcg	1560
ctcgctcata gccagtggct gagcgcgtggg ctccacagaa agactccccca gggccacttc	1620
atcctccaga atggggccccca tccagccccca gagggaaagac atgaggggaa cttttaagac	1680
aacaccatga ctcaccacccg ctaatgactt cccagaagag ttatgattgg acactggact	1740
gctccctccg aaagaagact agggaaacac acactcagcc tgctgtaat gagaaacatg	1800

tggacagggc acttcccata gatactgcag gggcaggtaa acccagattg gtattcctgc 1860
cagcaggggg tgcaaagaga aagaataggt tgctatggtt gcttgggagt tctagaagca 1920
tggcttagag tgtcttgctt tggtttctt tccttcctt ttctttctt ttctttctt 1980
cttctctct ttctgtctt aaaacttatt tatitaatgt atgtgagtagt actgttagctg 2040
tacccttcat gtggttgtt ggaattgaat tttaggacct ctgctcaactc cagtcagccc 2100
tgctcgctca ggaccaaaga tttatatttatt attatacata agtacactgt agctgacttc 2160
agacacacca ggagagggcg tcagatctca ttatgggtgg ttgtgagcca ccatgtggtt 2220
gctgggactt gaactcagga cctctggag agcagtcagt gctcttaccc gctgagccat 2280
ctcgccagcc ccttgcttca ttttctatt gctataacaa atatccaaga ttgagtagtt 2340
tataagaagt ccaaaggcat ggcccttctg ttcagggcct gttccttgca ttctaacatg 2400
gtgagggcat cgtgtggcca actagaacaa gcacgtggcc tggcagagag gcctcgccca 2460
tcgagtgcac ttgctctttg tggtgatgga agtggttcca ttaggaggca tggccttggtt 2520
ggaggaagtg tgtcaactgtg taggaggcgt ttgaggggtc ctagtgctca agtgcttaccc 2580
agtgcagaac actcagtcac tcctgggtgt cctatgatca agatctagaa ctctcagctt 2640
cttctgcagc actgtgtctg tctgcatgtc gccaggcttc ttgctatgt gataatggac 2700
tgaacctctg aaactgttaag ccagccccaa ttaaatgttt gccttggta gagtagcctt 2760
ggtcatggtg cctgttaca gcaatagaaa ccttaactaa gacacagttc ttgaagagga 2820
tggagttcct agcacccatg gccagcaact caccataact cttgttccag ggaatctgg 2880
gccctttctt ggcctttaag tgtatacaca cacaccacac acacacacac accacacaca 2940
cacacacaca cacacacaca tacacaccac acacacacac acacaccaca gagagagaga 3000
agcacaatag ctcaggattc ttcttatgtt atcacaatg atgtcacagg agctccacca 3060
tgtaacttcc tataaatcta actctcttcg attttataaa tttactatat gtgggtgtgt 3120
gtcagatctt ggattacaga cagtcatgac ctgccatgt gatgctggga attgaaccccg 3180
gattgctgag ccatctctcc tgctccctaa ctcactctca gaagccgcag ttccaaatac 3240
ctttgacaca tgctttgagg gaattaaagt gtctagacat gagggatcat tgaaggcaca 3300
ataaggactc actctacagg acaagagctg tgtctgctaa cagtagtggt cccaggcagg 3360
aaggagcca ggaagcaaaa actgactcct ctcttgcttc ccacccatt tagggcttcc 3420
cattgactga gtctaaccag aagctggcag gatgggtcc tttagaagtt agactcttgg 3480

gccccaggac atagctcagt tggatataga cttgccta ac atgcacaa ag ctccagg ttc 3540
tatcacatac agtgtacagg ttgacacact tcatctcagc actcagg tgg tagaggcagg 3600
aggtaagag ttcaagg gcca tccttagcta aagtgg tgg ttcaagg gcca gcctgatatg 3660
gaagacctt g tcaccca aaga agtcttctga gacccaaa ag atgacatgaa gcacagg gagg 3720
aagg tgg a tggagactag ccaatgtgat tggaggatg gggccagca cattgggtgt 3780
gagg tttggg caaactcaa agtccttgat cagaggacgg agggtggta aatggtcaag 3840
aatgctt gtt ctccagagg accctgatct ggctcctagc accctcattg tgaccacaa 3900
aacatccata actctagg ttc tagggcactc agcacacaca ccatgcacat acacgtgtgc 3960
aggcaaaaca ttcaaaaatc taaaaattaa aaaataaaaat aaaataaaaat tcttgacagt 4020
gtgcccagtt gtccttgaga cagtggacag taataagtgg gcttagggta tatgtgatgg 4080
tttgatatg ctgctcaga gagtagcact attaggaggt gtggtctt gt gggagtaggt 4140
gtgtcactgt ggggtgagc ttaagagcct catcctagct ccctggaagc cagtcttctc 4200
ctagcagtct tcagatgaa ag atgcagaact ctcagctcct cctacaccat gtctgcctgg 4260
atgctgctat gctccaccc t gatgataat ggattgaaacc tctgaacctg tcagccagac 4320
ccaattaaat gttgtccctg ataagattt ccttggtcat ggtatctgtt cacagtggta 4380
aaacccta ac taagacagta tgacacatg aaccaaaaa aactggaacc ctttcttct 4440
tttcttgca agcgtcaatt ggctgaa ggttggctt ggcctaaac tctctaagta gatgagtgtc 4500
cttgactcca cttcgaaag tgcttggct aaaggcatgt accatgatac tgctttatgt 4560
ggta ctggg tatcaacccca tagcctact catgttaggc aagcactctg agctgcattc 4620
ccatccaagg gttggcttt tagtggtaa aagcccgta actcttctc gcttggtcc 4680
tgactctgt gtccttca ctccagcgga accctccag cctccaaacg gcagctggcc 4740
cccgagtctg cgagagagtg atgctgaaac cggccggtg gccagcctca cttcttctc 4800
ctactaccag cactcctctc cggtgccgc catgttcatc gcccctacg cgctcatctt 4860
cctcctctc atggtggca acaccctggt ctgcttcatc gtgcttaaga accggcacat 4920
gcccactgtc accaacatgt tcacccctaa cctggccgtc agcgcacctgc tgg tggcat 4980
cttctgcattg cccacaaccc tcgtggacaa ccttattacc ggtgagatgt accaagg gggc 5040
agcaggagg ccctcttcac cttcgcttc gcttccactt tccagctaaa gactgacg cgc 5100
gaagccggga agacagagat cactgagcct cacagacaag gggcccggtt gtc tcaactc 5160

tgacagagag gtgaataaga ataaccaacc taatgggcta atcagtgccca ggcattatgt 5220
atgatttgc agtttatctta attaatccctt agaataagcc aaccaaggcat gctttttat 5280
tttagcctcat tttacggatg aggaatcaag ctcagagcag ttaagggct gatctgtaat 5340
tatttacctt gtcagtgtca gggccagttgt gctcataccctt ctgtgtctat tcataatctcc 5400
tttggccaca cccttggaga gagttcccat ggacagaatt agacagggga ggagtaggag 5460
gtgggcaact ttcttctgca cgaagacctg gaaatccact cctgcccatttcc atcctccat 5520
agaagatgtctt cttgtcctgc aggtctttagt ctcccatttttgg ctggaagact caggagtagg 5580
gactggctga ccgatgagct gggactgggt aagaggtctt taaatggaaag tagaccatca 5640
cctgcaaagt cccacagtttgc tcagaatgtc acacactcat ctctgatgtat aaacctgtct 5700
tgtcttaaca tcagagtttgc gagactcaag ctgtggagac ctttcagggtc taagggggaa 5760
gatccccctgg ctacttgggg ttactcagct gttccttaggg agtccttctt ggtctgcgcct 5820
ccctctttat agtggctctg atgacgcagg cccagggagg ggaaggctga gggtgtgcag 5880
gttcctggat cctaaaggga aatgatggag agtcttctgg ctgtatgccc ggtggagact 5940
tgcctctctg tttagttctg atccccgcag agatgccaatcacaaaccgt acaacccttct 6000
tccagcaccc gcagacagtc tagatctaga tctggctac aagtctccaa agggtattta 6060
cagttataatc atttatgtga cattttcaaaa ggccaaatcg tattttctgt cccctgagat 6120
agccaaattga cagattcaag agatggaggg tgggtccggat aatgaaggac cgagtggaaag 6180
cttcctggag ttagtgcataa tttctgtatc tttagtggacg ctgcctggct gcatgtgtgc 6240
cttaaacctg tgacacctgtatc tgccaaaaac agtggggctc attgtttgtc gaaaatagtt 6300
ccagtgtgaa acatgcccattt atgttagtcc atttccatgg ttggatatac atgatgggtg 6360
tcaagatggc tgagcaggtg agtgactggt tgggtcccaa gtctcttcc ccgagccccca 6420
taaagttagaa ggagaaggcc tactcctgca agttgtcctc tgacctctgt gcatgtatgc 6480
atgtgcacac gagtgcaactc acacacacac acacacacac aaatacacat gtgtatgtgt 6540
gcatgcacac acatcaaatttgc tgatTTTTTTTttttttttttt gagaaggct agagagatgg 6600
ctcaggggtt aaagagatgg cccagtggtt agagagatgg cccagtggtt agagagatgg 6660
ctcagtggtt agagagatgg cccagtggtt agagagatgg cccagtggtt agagagatgg 6720
cccagtggtt agagagacag cccagtggtt agagagatgg ccaagtggtt acgagtgtgt 6780
acggctcaactc acacgcactc tcagctccca cgctgggttag cttacagatg actagctcca 6840

gttcaggaga tccaaacacct ctttcacgtg cacctgttt catgtgcaca cacctaaaca 6900
cagagatgca gatttacaca tatagaaaata cactaaaaat aaggtaatc tttttttaaa 6960
aagtcatgtg gcctcctaga agaacaactc tgtggctgt auggagtc ttgttgtagg 7020
tacttttaa atgggagtgt ttgcctattc tagtatgtat gtatgtatgt gtgtatatat 7080
ttattgtgt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 7140
gtatagacct caagcttagct ctgcagtctt gaactcagag atctggctgc ctctgcctcc 7200
tgagtgcgtt gattaaaggc gtggaccacc actgctctgc tatttttaaa acttttttac 7260
ttattttatg tgcatggaca ttttgcttaa tgtatacatg tgcaccccat gcgtctctgg 7320
tgcctgcaga gacttgaggg gggcatcaga ttccctcaaa ctggagttgt agatggttct 7380
gagtcactga tgcttaggaac caaacacagg tcctctgcaa gatcaacaag agctcttggc 7440
cacggagcca tctccccagc cccttggaaac aatgttagac ttaaagtaaa atagcgaagc 7500
tagcatagaa tccttggcat atgccttgc ctccctcccc aacaatcata atagagtaaa 7560
tacctggaga aagcttcccg tttttttttt tttttttttt tttttttttt 7620
ttggttttgt ttgtttttgt ctatttttaaa tttcaactgt gtccccttaaa tgtcattttc 7680
taggagtttg aaccataatt ccaagaaaaca caactgaaat gctcaaataatct tgaatggtgg 7740
agccagggtgt gataatctga atgaactcaa gaggccagcc tgggggttat gcagtgaaac 7800
tgaatctcaa acagaaaaaca agcatcaatc acaagggtcat gacaataaca gcaatggAAC 7860
aggccacttc agaggctgct ttaactataa agtaggcgcac aatagcttgc attgctgcaa 7920
gcataaaacac tcaggtactc aaatgatatg tttttttttt tttttttttt 7980
cattactgtt cataatgggt ctaaagtgaa ggttggaaat tttttttttt tttttttttt 8040
actgtggatt cctggattgc catggatgtc ttggatgtt tttttttttt tttttttttt 8100
actgtgacta aggccactct tatgaaagaa agtatgtat tttttttttt tttttttttt 8160
agaggttagt ccattgtcat ggtgaccgaa ggcaggccag cacagaagtc agtaagatct 8220
gcattcctgac ataggcagag agaggagaat tttttttttt tttttttttt 8280
gagcccactc cagtgactca cttccctccaa caaagccatg cttcttaatc cttcttaatcc 8340
tttcaaaggc tcccatgctc aggtgactaa gcattccaat agatgagctt ctggggccat 8400
tctttttttt ggggggggggg ggtttttttt tttttttttt tttttttttt 8460
ctctttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 8520

cagacacatt agaagagggt attgaatccc cattacagat ggttgtgagc caccatgtgg 8580
ttgcagggaa ttgaactcgac gacctcaaga agaacagtca gtgctcttaa tcgctgagcc 8640
atctctccag tccctggaac tcactttgc gaccaagctg acctcaaact cagaaatccg 8700
cctgcttcgt cctcccaagt gctgggatta aaggcgtgct ccaccactgc ccagctctgg 8760
gggggtcggtt cttattcaaa ccaccacact ggcagaaaac tcaaattctt tggtttcttag 8820
ggtgactgtc agatattacc ctgtggttca agcaagtctg gaattggcta tgcaaccagg 8880
ctagcctggc atgtgtgatt cttctcgaa ctctgtcttc tgagccctgt ggtgccagct 8940
gtgttcttagc tcatctgatt cttaagacgt ttgggtggct ccaccaaaac ctttgatagg 9000
tcacttctat atagagttt agacagtggc cttgggggaa gatTTTgaga aatTTTgttt 9060
cccgtaaatg cagacatcaa aaagatata ctaaattttt tttattttt tattttttt 9120
tttattttt tattttttt tttatTTTAC agacacagat aaagtcatgt tgcaacagt 9180
gcacacactc ttggagccag atttacaaaa gaagatacat aaatcagaac tctctgaaag 9240
tccgtgtata gtttatattt ccagtattca aaatgggtt gaaaaagtcaa atatccagca 9300
ttaagaaaat cttactttgg gggtggggca agaaaaaaaaa aagaggaagg aaattgggct 9360
ggcttaggtct ggagagatgg agatggctca gcagctaaga attaagattc cttgcagag 9420
gagccatgtt caatccccac atggcgatgt gttcaattgc acccatggat cacaacctgt 9480
taacggtttc tagctcccttc ttctgtccac tgcaggtact acatgcacat ggtacacata 9540
catgcaggca aaacactcat aactaaatat agatTTTtta aaaagagggtt gataatgtaa 9600
aaatagttag aaggTTTtaa aactaaaaaa aaagcaaaaa gtttaacat atgaaaatat 9660
gaaaaagtgg tacttcaggg ttatattgtt agcagccaca cagaggtcat gcctaaggc 9720
tggcaagccc cgccatcatc aaccatctgc tgactgtctt ggagtgcagt aaacagttag 9780
aggcagatct tcctcgattt tccagcagcc actccatttt tgTTTCTCCT atTTTtaatg 9840
tttaacgggtt tattttttt tatttacaag cgctgtatct gcatgtacac ctgcattgc 9900
gaagagggca tcagatccca ttacagatgg ttgtgggtgc tgggaattcc agtacctctg 9960
ggtgagtagc cagtgcctt aaccactgag ccacccctt agctcccctt atTTTcagg 10020
tttaaaaatga catTTTattt tcgtctctt ctctctctt ctctctctt ctctctctt 10080
ctctctctt ctctctctt ctctctctt tctctctgtg tctgtatgtg tgggtatgt 10140
ttactttgtg gggcatagga atgcatgttag cttaacatac atgtagaagt cagaggacag 10200

cttatggcgc tatgcagtagt agattctt ctgctatgtg ggtcttgat tgagcttagg 10260
cttgtgacaa gagctgacct tgaccgcctt ggttagcct agagtgaact tgaactcctc 10320
cacctctgga ttatggtaat tacaggccca tgccctacgc ttcactctca cgcataatct 10380
gtgtgatagg tcitcctcgc cttacccact caggctcaca gtcttcctg aagatatcct 10440
tactgtcaca accaaaacaa tgtctttcca gttcccagg tgctctgcct tcctgacgtg 10500
gatacaggc tcctgggaca gcctgggca cactgatact cttccctgg agccttccat 10560
ggaatttcaa gcttcggct ttgggtttta gggttttgat atttaggat ttgggtacttg 10620
cgaaacgttg ctggggag cttagactca atcttctgg tgttctggat tctgactaga 10680
accacttgc tcacccaaatg tcagacctag ggtatctagc tgatttaat tatttcctc 10740
cttcttctg gacccagtg cttaggatta gaatttaggat tcaaccatac tttatcatta 10800
aactacattc tcagccatat gtatgtgtt atacacacac acacacacat atatttttt 10860
ttttgaggct ggccgagatag ctcaatgggtt aagagcatgt gctgctttg cagaggaccc 10920
atgtttgggtt cctagatccc acacatggc ccacactatc agtgaactca gttgcagagg 10980
ttctcaagtc ctctccagcg ccggggctc caggcatgca tagagtgcac acatgcaggc 11040
aaacactcat acacataaaa taaaatataa aaaaccttat taacttactc atgtgtgtt 11100
gtgtgtgtgt gtgtgtgcgc gcgtgcgcac gcgtatgcgt ggtgtatttg agtgtttata 11160
tgttcacccat acatgtgttag gtgcctgtga aggtcagaat caaatccat agtccctggac 11220
ttattacagg tgggtgttag ctgcgttgtt ggtatgttag agttgaatcc cactcctctg 11280
caggagcaac aagtgcctt aaccactgag ccattctcc aacccttgg tctcttttg 11340
atttttttt tcttgattt tttgagacag ggtctctctg ttaggcctgg ctgtcctgg 11400
actcaatttt tagaccaggc tggcctcaaa ctcaggaaat ccacccctgcct ctgcctccca 11460
ggtgctggga taaaaggcgt gcaccaccaat gcccggctct cttttgatt ttatttgtt 11520
tgtggatgtat tatgcacgca cacattcatg catgcgtat tacattttt tcatgtatgt 11580
gtgagtgat gcataggtgc ggaggcctga ggttgcacatc tcctgcattt gcccctgagt 11640
agctggatgt acaagtctgt gcttccagg ccagtcacc gaagtgtttc cttagctctc 11700
tccaaatcagc cctaggtgcc aggtcatgac atcacatgtt tagaagctgc tcttccattt 11760
tttgcaatat gaggatttt gttttttct ctgatgccag gacccacttgcact ttggccctgg 11820
gatcccttgac taaggatgcc tcgtgattag ggcacatctgtt aagcaacctc ttccccctt 11880

ctttaaagga cagatgttcg tacagtaaag ctgggatcag gttgggtct ctgcactac 11940
ggatgcagag cagaacctca gggagatgct ctttgatcc agcactggag ggtgtgtgt 12000
gaacttgtct cagacggagg cctctacggg tgagcagtct caggctgtaa acatcctaaa 12060
catccagggaa ggagttgcta gtctttcat acattggtca gtccatcata aacactctgg 12120
aaccaaggct agtggcactc acgttaaatc ctagcacttg ggaggcagag gcaagcagat 12180
ctctaagtct gaggccagcc tggctccag agtgagttcc aggatagcca gggctacaca 12240
gagaaaccct gtctcaaaaa aaaaaaaaaac acaacaagaa aaaaaagggg gggatcatat 12300
tctgattcgt gaggaatgtg ctggcattcc tcttgcgcct gccaaatatg acatggctt 12360
gccaaatgtcc tgttaggtcca agcttggag cctgcacatg gctatgccc tgtaggcaat 12420
attcatttac tcagaacttc actccctccc gtgcgtcctc tgctccctac accttgatta 12480
gattcagttg agccattttag ggacgtcctc tgctccctac accttgatta gattcagttg 12540
agccattttag ggagagcagc atggatccgt gggcaaggca cagatgagag ccgagcctt 12600
tgctcgattt ctttagtaac tgctgtctt aggctgtgaa gccagcacct ccccccttct 12660
aattatgaag taccctacgg ggtgatcctc tgagaccatg caaatgtcat ggctcgat 12720
atttttgtac cgacttcata gtgtgccac ccacaacact gcttcatac ctgttccctc 12780
ttaatgacat tcacatcctc tgtatTTact aattggctt ctgcttcctg gctttaatc 12840
caacatgatt gtttattttt ttgcctaaac tgctcttagt ctggcaattt caatttggaaag 12900
ctcacagccg ctggcttctg tgccttccc atatacagcc atcatgtttt gagtatttcc 12960
ttccttcttc attccacaga atgttctaga tcatctcaca attttcttac accagccctg 13020
gaattaaacta gttttttaa aagccttgg tcccttgatt ggcctgcact atttagttct 13080
attttatgcg catgcgaatt ctactcgcat gcctggtgc cacagaggc agaagaggc 13140
atcagagctc ctggagctag agagttatgg atgttggaaag ccaccatacg gatgctgggg 13200
actgaaccag agtcctctgc aagagcaacc agttgtctt gctgctgagc catctccaca 13260
ggccaaggag tagagtattt acaagcaaag gtctgacttc ctgaggggtgc ttatcagggt 13320
tagagttggct tgattctaga ctctgaaggg acagagctgg gacatgcattt caaattgcca 13380
tagagttctt tgacacatgt cttttgtgt tgggttggg acagggcttc acatgttagcc 13440
ttggtttccc tggaaactcac tatgttaaccc aggctgaccc gaaactcaac agagatctgt 13500
cttcctctgt ttcccaaattt ctgagattaa agacatgtat caccacaccc agctccgtct 13560

tcgctcctgt gtctggccat gtgcctgtat ttcagaaaact gtgctccata ctaataacttc 13620
agattccaat ccagtctcag aaaatgtatt ttagctcctc cctttttgt agctttcttc 13680
tcagtgagaa caaaaatctt tgtttatcca cagcctgttt atttatctgt ttggtccact 13740
tcagtataca ggtgtgataa taatatatac gctgtggata tgtgataatg atgattgggt 13800
aataacagag ctacttcgag gaaggaacgg cctccctcct gggctggata ataggctcca 13860
gacatcagggc agggctagat gacctaagg tcattgacac aatcagctgt caactaaagg 13920
ccatcttcct aaaagtagtg ttcacacgct gggtggctcc tcggcacag tcacagagac 13980
ctcacaagcc ctcacagcac gaggatcaat gagcgggttt tccaggagac attggttata 14040
tggcaggtgc tatgcatttt gttgattagg catctctcac cctgtggggg cctctgtcg 14100
tacagggtgg cctttgaca atgcacatg caagatgagc ggcttggtagc agggcatgtc 14160
cgtgtctgctc tcgggtttca cactgggtgc cattgccgtg gagaggttag aacccctt 14220
ggtaattct gggactggca cgctggact agcttagatgg ttgttagggag agatcggttg 14280
agaataccac cccatccctt tctgggaggc agaggccact cctgacaaga tctcatagca 14340
atttctgggg tctgctcaag gcagtctgca tcctgggtac caggagtccc accttcctt 14400
tgtttaggcc cgggaagcca gagcttagagg agcctgtctg cagatggct tggcatagct 14460
gggaaggacc gacctttttt gtttctatat tctatctact tgctgggtc tggaaaggccct 14520
ggctttactc .cgctcgatc tctgtcgctt ctggcatcc agccttgcc tccagcagag 14580
gctagagtaa gaatcactt ggtgacaaa tggttctgtc cgtgtggcca aggtgagctt 14640
aagcttccct tcccagaaca cacagatgtg accccacccc tgctcctcat taagtagctc 14700
agtagggcaa ggtggctca gtggtaaga gcacaggctg ttcttccaga ggtcctgagt 14760
tcaattccca gcaaccacat ggtggctcac agccatctt agtgagaagc tggtgccctc 14820
ttctggtctt cagtcgtaca tgcaggagac tggtttttag ctatgagaca cagagagaga 14880
gagagagaga gagagagaga gagagagaga gagagagaga acagggcaca 14940
gttgggtgac tgtggtatct ctgaccagag agtagaaatg cttgtggttt acaaaccctcag 15000
aacagtgcag gttggcaaaa gtttctgcac gtattgtaaa tgcctggac ttggctgacc 15060
tcagtttttag ccggaaggca gtctggatct agcaaatagt tcttccaa tcattggggc 15120
gggggggggg ggggagcggg gggggggggct gtcaataggc tccaccactg atccactccc 15180
cagtccccagc tcctgagggtt ttcaggagtt ctataaacag ctaaaagttt cacctgttac 15240

atttgtatcgctgggtcaatgggctcagtggatcaaggatggtcaccaagccctttga 15300
cctgaattccattgttaggcacatggtaaaaaagggaggattgtgactgctgcagggttct 15360
tttgtgtggagggagaaaaggctaagtggaggagggacaaacgaaacactaatacg 15420
tggtttttaaaaaagcgtttgtatatttgctagtcggcttccttaagcacagagtgtt 15480
tatcacagac tggctgtgtac tgcccgctac tgaataaaag aaaaaggaat aaaggaaagc 15540
ccatgactgc tccctggata tggggagggaa gaaagcttat tatagatatgtgggtgagaa 15600
cgcccgaggcaggacatc tccagagagt ccagagtggctgtgaaacctcggtgg 15660
ggagaggggg agggggaggg agagcgggaa accaaaggc acgagccataggccaaagg 15720
tgcaaaaagga agtgggaggt agcccaaataatgtctaggcta tatagggagg agcctctgtg 15780
ggaagggcag cccagtgtctggctggaga gttcaggta gagggtgggg taggtcagct 15840
atacccagta acaggttagca accgagggat gctgggagaa cctaaaggcc aggtccgctt 15900
tgatatggta aataggaacc tcagtggcca gtcctgggtt gaacccttag tactgccagc 15960
taatctgttttaaaaataaag atctaagcct ctggagagag gttgttcctt cctcatctat 16020
tccactaaat ccacctaag ccataacaat ttagccggac tgcgtgcct cttcgcaaa 16080
agacaaacca attacttgt aaattaacct gattagtgcc gaagcagtgc tcgggtgctg 16140
cctaagtgcgtgatgtttggatcg tattccagta gcatccgaaa ctgcctcaag 16200
tagggtgatg aatgtcacgt gtcctttcc agtggccct agtcaggtca tctctggccc 16260
gctgggcctc cagggatcct cccagacact tactctgtt ctctccac ccctcgct 16320
gcaggttccg ctgcacatcgta cacccttcc gtgagaagct gaccctccgg aaggcgctgc 16380
tcaccatagc ggtgatctgg ggcgtggcgc tgctcatcat gtgtccctcg gcggtcactc 16440
tgaccgtcac gcgagaggag catcaactca tgctggatgc tcgcaaccgc tcctaccctc 16500
tctactctgtctggaggcc tggcccgaga agggcatgcg caaggtctac accgcgtgc 16560
tcttcgcgca catctatctg ggcgcgtgg cgctcatcggtgtatgtac ggcgcgtcg 16620
cgcgcaagct gtgccaggcc cccggtccag cgccgcacgc ggaggaggcg gtggccgagg 16680
gtggccgcgc gtcgcgcgc agggcccccg tggtgcataat gtcggatgtac gtggcgctct 16740
tcttcacattgtcctggctgcactctgg tgctgtgcgt gtcatcgac tacggggagc 16800
tgagcgagct gcaagctgcac ttgtgtccgtctacgcctt cccgttggca cactggctgg 16860
ccttcttcca cagcagcgcc aacccattatctacggcta ttcaacgcgaaacttccgccc 16920

gcggcttcca ggctgccttc cggcacagc tctgctggct tccctggcc gcccacaagc 16980
aagcctactc cgagcggcct ggccgcctcc tgcgcaaggcg ggtgggtgt gacgtgcaac 17040
ccagcgactc agggctgccca tcggagtctg gccccagcag tggggccca gggcctaacc 17100
ggctgccatt gcgcaatggg cgtgtggccc accaggatgg cccgaggaa gggcctggct 17160
gcaaccacat gcccctcaact atcccagcct ggaacatttg aggtggtcca gagaggaaac 17220
gtcctgttagg cctgtggccc tgacccttaa ctatgatgcc tggcacaat agcagtatta 17280
gaagagggtg ccgagatgcc tccttgataa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaac 17340
gagacagtga ggcattgaga cccaggaga ggtgacaagg tctcaccgtt gggaatccta 17400
cttgaccctag actccagtaa gtctccccag gaaaatgtgt cactagggtgg ttaggaagag 17460
gtgaccactt ctacacactg agcacctgtg accgagtccc ctgtgctgtg ttgctgagag 17520
agctccctt ggccctttcc tggaaacat ccaagctctc cgcttgccag ggccagtgtt 17580
ttagttgttt tattccagga agtgcatac ccacttcagc atgtcacaac tgagcagctc 17640
caagaagaac cctagggagc ccatttaaat ggcactgggt tgagcctaag ggagactccc 17700
ccccccccc ccagagccaa gcagagcttc caacagtacc aagagctcat gggtggcagg 17760
caagggaaaa aggaagacag caatgccaac tctccctca ggaaatatct tagtggccca 17820
gtgagcatga acc 17833

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/10078

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ A61K38/27, 31/7088, 39/395, 45/00, 48/00, A61P3/04,
 5/00, 5/38, 7/00, 9/00, 13/12, 15/00, 21/00, 21/04, 25/00,
 25/02, 25/08, 25/14, 25/18, 25/20, 25/24, 27/02, 37/00,

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ A61K38/00-58, A61P21/00, 21/04

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2003
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2003	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2003

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CAPLUS (STN), BIOSIS (STN), REGISTRY (STN), EMBASE (STN), MEDLINE (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 01/66134 A1 (TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD.), 13 September, 2001 (13.09.01), Full text; particularly, Claim 1 & EP 1262190 A1	1-12, 27, 28, 55, 56
A	EP 1132405 A1 (TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD.), 12 September, 2001 (12.09.01), Full text; particularly, Par. Nos. [0181], [0182] & WO 00/29441 A	1-12, 27, 28, 55, 56
A	UKENA, Kazuyoshi et al., Distribution of novel RFamide-related peptide-like immunoreactivity in the mouse central nervous system, Neuroscience Letters, 2001, Vol.300, No.3, pages 153 to 156; full text	1-12, 27, 28, 55, 56

Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	
"A"	document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E"	earlier document but published on or after the international filing date
"L"	document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O"	document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P"	document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T"	later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X"	document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y"	document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&"	document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search 10 September, 2003 (10.09.03)	Date of mailing of the international search report 25 November, 2003 (25.11.03)
--	--

Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/10078

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	UKENA, Kazuyoshi et al., A novel rat hypothalamic RFamide-related peptide identified by immunoaffinity chromatography and mass spectrometry, FEBS Letters, 2002 February, Vol.512, No.1-3, pages 255 to 258; full text	1-12, 27, 28, 55, 56

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/10078

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.: 25, 26

because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Claims 25 and 26 pertain to methods for treatment of the human body by therapy and thus relate to a subject matter which this International Searching Authority is not required, under the provisions of Article 17(2)(a)(i) of the PCT and Rule 39.1(iv) of the Regulations under the PCT, to search.

2. Claims Nos.:

because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. Claims Nos.:

because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

(See extra sheet.)

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.

3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

In the inventions according to claims 1 to 12, 27, 28, 55 and 56 of the present case, the relationship between the peptide represented by SEQ ID NO:1 and the use thereof described first in the claims, i.e., "myopathy" and "muscular depression".

Remark on Protest The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.

No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/10078

Continuation of Box No.II of continuation of first sheet(1)

Claims 1 to 12, 27, 28, 55 and 56 (number of inventions:8)

It is recognized that the invention according to claim 1 of the present case relates to "a preventive, a remedy or an improving agent for myopathy, adrenal dysfunction, twitching, aggressive behaviors, gait abnormality, body temperature rise, leukopenia, thrombopenia, increase in voluntary behaviors or muscular depression - - - containing a polypeptide having an amino acid which is the same or substantially the same as the amino acid sequence represented by SEQ ID NO:1" and it is recognized that the part common to the remedies for the respective uses cited as alternatives in the claim resides in "a remedy - - - containing a polypeptide having an amino acid which is the same or substantially the same as the amino acid sequence represented by SEQ ID NO:1".

As described in claim 1 of the following document 1, "a remedy containing a polypeptide having an amino acid which is the same or substantially the same as the amino acid sequence represented by SEQ ID NO:1" had been publicly known. Thus, the above constitution cannot be considered as the gist of the invention because of not being a novel matter.

Also, it cannot be considered that they have any common problem that had remained unsolved until the application of the present case.

The same applies to claims 2 to 12, 27, 28, 55 and 56.

Such being the case, the 8 inventions described as alternatives in claims 1 to 12, 27, 28, 55 and 56, i.e., remedies to be applied respectively for "myopathy", "adrenal dysfunction", "twitching", "aggressive behaviors", "gait abnormality", "body temperature rise", "leukopenia" and "increase in voluntary behaviors" are not considered as a group of inventions so linked as to form a single general inventive concept.

(In counting the inventions, the combinations of "leukopenia" with "thrombopenia", and "myopathy" with "muscular depression" are each considered as a single invention.)

Claims 13 to 24, 27, 28, 55 and 56 (number of inventions:8)

It is recognized that the matter common to "a preventive, a remedy or an improving agent" having respective uses as described in the alternative form in claim 13 resides in "a remedy - - - containing a polypeptide having an amino acid which is the same or substantially the same as the amino acid sequence represented by SEQ ID NO:11".

As described in the following document 2, "a receptor protein OT7T022 having an amino acid which is the same or substantially the same as the amino acid sequence represented by SEQ ID NO:11 is useful in treating cystic macular edema" (p.49, lines 23-25). Thus, the above constitution cannot be considered as the gist of the invention because of not being a novel matter.

Also, it cannot be considered that they have any common problem that had remained unsolved until the application of the present case.

The same applies to claims 14 to 24, 27, 28, 55 and 56.

Such being the case, the 8 inventions described as alternatives in claims 14 to 24, 27, 28, 55 and 56 and having different uses are not considered as a group of inventions so linked as to form a single general inventive concept. (In counting the inventions, the combinations of "leukopenia" with "thrombopenia", and "myopathy" with "muscular depression" are each considered as a single invention.)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/10078

Continuation of Box No.II of continuation of first sheet(1)

The matter common to the invention according to claim 1 of the present case and the invention according to claim 13 resides in that "a preventive, a remedy or an improving agent for myopathy, adrenal dysfunction, twitching, aggressive behaviors, gait abnormality, body temperature rise, leukopenia, thrombopenia, increase in voluntary behaviors or muscular depression". However, remedies for myopathy and twitching had been well known by those skilled in the field of medicine prior to the application of the present case. Thus, the invention according to claim 13 and the invention according to claim 1 are not considered as a group of inventions so linked as to form a single general inventive concept. The same applies to claims 14 to 24, 27, 28, 55 and 56.

Claims 29 to 54 (number of inventions:1)

It is recognized that the inventions according to claims 29 to 54 of the present case relate to mammalian embryonic stem cells with inactivated OT7T0022 gene, a nonhuman mammal with the insufficient expression of OT7T0022 gene or a screening method using the animal. However, none of the stem cells, the nonhuman mammal and the screening method has any technical feature or problem common to the invention according to claim 1 of the present case.

Such being the case, the inventions according to claims 29 to 54 of the present case and the invention according to claim 1 of the present case are not considered as a group of inventions so linked as to form a single general inventive concept.

Document 1: WO 01/66134 A1 (Takeda Chemical Industries, Ltd.) 13 September, 2001 (13.09.01)

Document 2: EP 1132405 A1 (TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD) 12 September, 2001 (12.09.01)

Continuation of A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
(International Patent Classification (IPC))

Int.Cl⁷ C12N5/06, 5/10, A01K67/027, C12Q1/02, 1/68, C07K14/47

(According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC)

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl' A61K38/17, 31/7088, 39/395, 45/00, 48/00, A61P3/04, 5/00, 5/38, 7/00, 9/00, 13/12, 15/00, 21/00, 21/04, 25/00, 25/02, 25/08, 25/14, 25/18, 25/20, 25/24, 27/02, 37/00, C12N5/06, 5/10, A01K67/027, C12Q1/02, 1/68, C07K14/47

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl' A61K38/00-58, A61P21/00, 21/04

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2003年
日本国登録実用新案公報	1994-2003年
日本国実用新案登録公報	1996-2003年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CAPLUS (STN) BIOSIS (STN)
 REGISTRY (STN) EMBASE (STN)
 MEDLINE (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	WO 01/66134 A1(武田薬品工業株式会社)2001.09.13, 全文, 特に請求項1 & EP 1262190 A1	1-12, 27, 28, 55, 56
A	EP 1132405 A1(TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD)2001.09.12, 全文, 特に段落番号【0181】 , 【0182】 & WO 00/29441 A1	1-12, 27, 28, 55, 56
A	UKENA, Kazuyoshi <i>et al</i> , Distribution of novel RFamide-related peptide-like immunoreactivity in the mouse central nervous system, Neuroscience Letters, 2001, Vol. 300, No. 3, pp153-156, 全文	1-12, 27, 28, 55, 56

C欄の続きにも文献が列挙されている。

パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

- 「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
- 「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
- 「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
- 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
- 「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日 10.09.03	国際調査報告の発送日 25.11.03
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/JP) 郵便番号 100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 浜田 麻子 電話番号 03-3581-1101 内線 3451 4C 2938

C(読み) 関連すると認められる文献		関連する 請求の範囲の番号
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	
A	UKENA, Kazuyoshi <i>et al</i> , A novel rat hypothalamic RFamide-related peptide identified by immunoaffinity chromatography and mass spectrometry, FEBS Letters, 2002 Feb., Vol. 512, No. 1-3, pp255-258, 全文	1-12, 27, 28, 55, 56

第I欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見（第1ページの2の続き）

法第8条第3項（PCT第17条(2)(a)）の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. 請求の範囲 25, 26 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、

請求の範囲25, 26は、治療による人体の処置方法に関するものであって、PCT第17条(2)(a)(i)及びPCT規則39.1(iv)の規定により、この国際調査機関が国際調査を行うことを要しない対象に係るものである。

2. 請求の範囲 _____ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、

3. 請求の範囲 _____ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第II欄 発明の単一性が欠如しているときの意見（第1ページの3の続き）

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

別紙参照

1. 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。

2. 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。

3. 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。

4. 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

本願の請求の範囲1-12, 27, 28, 55, 56に係る発明のうち、配列番号1で表されるペプチドと、請求の範囲に最初に記載された用途である「筋疾患」及び「筋力低下」との関連について

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。

第II欄

請求の範囲1-12, 27, 28, 55, 56について（発明数8）

本願の請求の範囲1に係る発明は、「配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド～（略）を含有してなる筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加または筋低下の予防・治療・改善剤」であると認められ、当該請求の範囲に択一的に記載されたそれぞれの用途に用いられる治療剤の共通部は、「配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド～（略）を含有してなる治療剤」であると認められる。

ここで、下記文献1の請求項1に記載のとおり、「配列番号：1で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチドを含有してなる治療剤」は公知であるため、当該構成は新規な事項とは認められず、発明の主要部とみることができない。

また、それらがこの出願時まで未解決であった技術上の共通の課題を持つものとも認められない。

さらに、請求の範囲2-12, 27, 28, 55, 56についても同様である。

したがって、本願の請求の範囲1-12, 27, 28, 55, 56に択一的に記載された8つの発明、つまり、公知の有効成分を共通して含有し、「筋疾患」、「副腎機能障害」、「痙攣」、「攻撃性行動」、「歩行異常」、「体温上昇」、「白血球数減少」、「自発行動量の増加」のそれぞれの疾患に適用される治療剤は、いずれも単一の一般的発明概念を形成するように互いに関連している一群の発明とは認められない。

（なお、「白血球数減少」及び「血小板数減少」、「筋疾患」及び「筋力低下」はそれぞれ1の発明として発明の数を認定した。）

請求の範囲13-24, 27, 28, 55, 56について（発明数8）

本願の請求の範囲13に択一的に記載されたそれぞれの用途を有する「予防・治療・改善剤」の共通部は、「配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するポリペプチド～（略）を含有してなる治療剤」であると認められる。

ここで、下記文献2には、「配列番号：11で表されるアミノ酸配列と同一もしくは実質的に同一のアミノ酸配列を含有するレセプター蛋白質OT7T022が、囊胞状黄斑浮腫の治療に有用であること」が記載されているため（第49頁第23-25行）、当該構成は新規な事項とは認められず、発明の主要部とみることができない。

また、それらがこの出願時まで未解決であった技術上の共通の課題を持つものとも認められない。

さらに、請求の範囲14-24, 27, 28, 55, 56についても同様である。

したがって、本願の請求の範囲に14-24, 27, 28, 55, 56に択一的に記載された、異なる用途を有する8つの発明はいずれも、単一の一般的発明概念を形成するように互いに関連している一群の発明とは認められない。（発明の数の認定においては、「白血球数減少」及び「血小板数減少」、「筋疾患」及び「筋力低下」はそれぞれ1の発明とした。）

なお、本願の請求の範囲1に係る発明と、請求の範囲13に係る発明の共通部は「筋疾患、副腎機能障害、痙攣、攻撃性行動、歩行異常、体温上昇、白血球数減少、血小板数減少、自発行動量の増加または筋低下の予防・治療・改善剤」であるが、本願出願前の医薬品の分野においては、筋疾患や痙攣等の治療剤は当業者に周知であると認められるところ、本願の請求の範囲13に係る発明は、請求の範囲1に係る発明と単一の一般的発明概念を形成するように関連している一群の発明とは認められない。そして、請求の範囲14-24, 27, 28, 55, 56についても同様である。

請求の範囲29-54について（発明数1）

本願請求の範囲29-54に係る発明は、OT7T022遺伝子が不活性化された哺乳動物胚幹細胞、OT7T022遺伝子発現不全非ヒト哺乳動物、または当該動物を用いたスクリーニング方法であると認められるが、当該幹細胞、非ヒト哺乳動物、スクリーニング方法のいずれも、本願の請求の範囲1に係る発明と共通の技術的特徴または課題を有していない。

したがって、本願の請求の範囲29-54に係る発明は、本願の請求の範囲1に係る発明と単一の一般的発明概念を形成するように関連している一群の発明とは認められない。

文献1：WO 01/66134 A1(武田薬品工業株式会社)2001.09.13

文献2：EP 1132405 A1(TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD)2001.09.12